



**PENGARUH VITAMIN A ORAL
TERHADAP METAPLASIA EPITEL KONJUNGTIVA PADA
PENATALAKSANAAN DISFUNGSI KELENJAR MEIBOM**

LAPORAN PENELITIAN

Diajukan guna melengkapi persyaratan dalam mengikuti
Program Pendidikan Dokter Spesialis I
Ilmu Penyakit Mata

Oleh :

ROSALIA SEPTIANA WIDIASTUTI

Pembimbing :

Dr. SITI SUNDARI SUTEDJA, SpM

Dr. WINARTO, SpM (K), SpMK

BAGIAN / SMF ILMU PENYAKIT MATA FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS DIPONEGORO / RSUP Dr. KARIADI

SEMARANG

2003

LAPORAN PENELITIAN

Judul Penelitian : Pengaruh Vitamin A Oral terhadap Metaplasia Epitel
Konjungtiva Pada Penatalaksanaan Disfungsi Kelenjar
Meibom

Nama Peneliti : dr. Rosalia Septiana Widiastuti

Bagian : Ilmu Penyakit Mata Fakultas Kedokteran Universitas
Diponegoro Semarang

Pembimbing : dr. Siti Sundari Sutedja, SpM
dr. Winarto, SpM (K), SpMK

Tempat Penelitian : Instalasi Rawat jalan SMF Mata dan Laboratorium Patologi
Anatomi RSUP Dr. Kariadi Semarang

Lama Penelitian : 12 bulan

Semarang, Januari 2003

Peneliti,


dr. Rosalia Septiana W

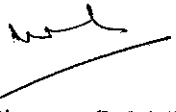
Menyetujui,

Pembimbing,


dr. Siti Sundari Sutedja, SpM


NIP 140 086 853

Pembimbing,

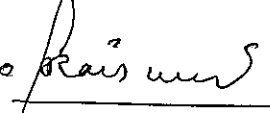

dr. Winarto, SpM (K), SpMK

NIP 130 675 157

Ketua Bagian Ilmu Penyakit Mata
Fakultas Kedokteran UNDIP


dr. Norma D. Handojo, SpM (K)
NIP 130-675 158

Ketua Program Studi PPDS I I.P. Mata
Fakultas Kedokteran UNDIP


dr. Pramanawati, SpM
NIP 130 529 420

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Tuhan YME karena dengan berkat dan rahmatNya saya dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **“Pengaruh Vitamin A Oral Terhadap Metaplasia Epitel Konjungtiva Pada penatalaksanaan Disfungsi Kelenjar Meibom”** guna memenuhi salah satu syarat dalam mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Mata.

Pada kesempatan ini saya ingin menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada guru-guru saya yang telah memberikan arahan, bimbingan dan suri tauladan selama masa pendidikan, juga rasa terima kasih kepada keluarga dan berbagai pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan pendidikan spesialis ini:

1. **Prof. Dr. H. Wilardjo, SpM (K)**, sesepuh di Bagian Ilmu Penyakit Mata FK UNDIP dan bapak asuh.
2. **Dr. Norma D. Handojo, SpM (K)**, Ketua Bagian / SMF Ilmu Penyakit Mata FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi.
3. **Dr. Siti Sundari Sutedja, SpM**, Sekretaris Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Mata FK UNDIP dan pembimbing penelitian.
4. **Dr. H. Winarto, SpM (K), SpMK**, pembimbing penelitian.
5. **Dr. Pramanawati, SpM**, Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Mata FK UNDIP.
6. **Dr. PA Dewi Sarjadi, SpM, Dr. Suwido Magnadi, SpM, Dr. H. Sukri Kardani, SpM, Dr. Sri Inakawati, SpM, Dr. Fifi Luthfi Rahmi, SpM MS**, staf pengajar Bagian Ilmu Penyakit Mata FK UNDIP
7. **Dr. Siti Amarwati Yulianto, Sp PA**, staf pengajar Bagian Patologi Anatomi FK UNDIP, pembimbing penelitian beserta staf paramedis Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Kariadi Semarang, yang telah memberi kesempatan untuk pemeriksaan sampel penelitian ini.
8. **Drg. Henry Setiawan**, staf pengajar Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat FK UNDIP, pembimbing statistik.
9. Orang tua saya, **Bapak Hc. Heru Suyatno, BA (Alm)** dan **Ibu Hc. Nani S** dan juga kepada bapak dan ibu mertua, **Bapak Dr. F Sutoko, SpB**,

9. **SpBP dan Ibu Lidwina S Yuwati (Alm)**, yang telah memberikan bimbingan, dukungan dan doa kepada saya.
10. Suamiku tercinta **Dr. Albertus Ari Adrianto** yang telah memberikan pengorbanan, dukungan dan doanya, serta anakku tersayang **Lidwina Vania Shaynaputri**.
11. Para sejawat residen, staf medis dan paramedis di ruang IRNA A 4 dan IRJA SMF Mata RSUP Dr. Kariadi Semarang.

Dengan segala kerendahan hati saya menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna dan banyak kekurangannya, oleh karenanya dengan lapang dada saya akan menerima kritik dan saran yang diberikan. Meski bagaimanapun kecilnya, semoga penelitian ini ada manfaatnya bagi kita semua yang berkecimpung di bidang oftalmologi.

Semarang, Januari 2003

Penulis

**PENGARUH VITAMIN A ORAL
TERHADAP METAPLASIA EPITEL KONJUNGTTIVA PADA
PENATALAKSANAAN DISFUNGSI KELENJAR MEIBOM**

ABSTRAK

Latar Belakang : Disfungsi Kelenjar Meibom (DKM) adalah kelainan dimana kelenjar Meibom tidak mampu mengeluarkan lipid dengan kuantitas dan kualitas yang baik. Patogenesis DKM belum dapat dipastikan, diduga hiperkeratinisasi epitel saluran kelenjar Meibom dan adanya peran bakteri gram positif pada tepi palpebra yang mempunyai aktifitas sebagai enzim lipase. Pada DKM terjadi pula kerusakan konjungtiva berupa gambaran metaplasia skuamosa dengan keratinisasi epitel dan penurunan atau hilangnya sel goblet serta sel-sel non goblet permukaan mata.

Tujuan : Membandingkan efek terapi kombinasi vitamin A topikal dan doksisisiklin oral dengan kombinasi vitamin A topikal, doksisisiklin oral dan vitamin A oral terhadap metaplasia epitel konjungtiva penderita DKM.

Metoda : Uji klinis acak tersamar ganda. Pada 66 sampel yang terbagi dalam 2 kelompok perlakuan, kelompok I diterapi vitamin A tetes mata 4 x 2 tetes/hari dan doksisisiklin 1x 100 mg/hari selama 4 minggu, sedangkan kelompok II diterapi vitamin A tetes mata 4 x 2 tetes/hari dan doksisisiklin 1x 100 mg/hari selama 12 minggu dan vitamin A 1 x 6000 IU/hari selama 3 minggu. Dilakukan pemeriksaan derajat metaplasia konjungtiva (tes rose bengal), gradasi DKM, kualitas musin (tes Ferning) dan kuantitas air mata (tes Schirmer) pada awal penelitian (sebelum perlakuan) dan setelah perlakuan (akhir minggu ke-4, ke-8 dan ke-12). Pemeriksaan derajat metaplasia konjungtiva dengan sitologi impresi dilakukan pada awal penelitian, akhir minggu ke-4, dan ke-12.

Hasil : Pada kelompok I dan II perbaikan metaplasia epitel konjungtiva, gradasi DKM, dan kualitas musin yang bermakna terjadi pada minggu ke-4 sampai dengan minggu ke-12 ($p_{M_{0-4}} < 0,0001$; $p_{M_{0-8}} < 0,0001$; $p_{M_{0-12}} < 0,0001$). Perbaikan kuantitas air mata pada kelompok I signifikan sampai dengan minggu ke-8 ($p_{M_{0-4}} = 0,001$; $p_{M_{4-8}} = 0,003$), tetapi pada minggu ke-12 tidak signifikan ($p_{M_{8-12}} = 0,317$), sedangkan pada kelompok II signifikan sampai dengan minggu ke-12 ($p_{M_{0-4}} < 0,0001$; $p_{M_{4-8}} = 0,001$; $p_{M_{8-12}} = 0,014$). Pada awal penelitian sampai dengan minggu ke-8 tidak terdapat perbedaan efek terapi yang signifikan antara kedua kelompok, tetapi pada minggu ke-12 terdapat perbedaan yang signifikan terhadap perbaikan epitel konjungtiva (sitologi impresi $p=0,018$; rose bengal $p=0,002$), gradasi DKM ($p=0,007$), kualitas musin ($p=0,009$), dan kuantitas air mata ($p=0,040$) dengan hasil yang lebih baik pada kelompok II.

Kesimpulan :

1. Pemberian terapi pada kelompok I dan II mampu memberikan perbaikan epitel konjungtiva, gradasi DKM, kualitas musin dan kuantitas air mata yang bermakna secara statistik sampai 12 minggu.
2. Terdapat kecenderungan bahwa pemberian vitamin A oral memberikan efek yang lebih baik.

Kata Kunci : Disfungsi Kelenjar Meibom, metaplasia epitel konjungtiva, sitologi impresi, vitamin A.

DAFTAR ISI

		Halaman
BAB I	PENDAHULUAN	1
	1.1. Latar Belakang Masalah	2
	1.2. Perumusan Masalah	3
	1.3. Hipotesis	3
	1.4. Tujuan Penelitian	3
	1.5. Manfaat Hasil	3
BAB II	TINJAUAN KEPUSTAKAAN	4
	II.1. DISFUNGSI KELENJAR MEIBOM	4
	II.2. LAM DAN EPITEL PERMUKAAN MATA	8
	II.2.1. Lapisan Air Mata	8
	II.2.1.1. Tes Schirmer	10
	II.2.1.2. Tes Ferning	11
	II.2.2. Metaplasia Epitel Konjungtiva	13
	II.2.2.1. Sitologi Impresi	17
	II.2.2.2. Tes Rose Bengal	18
	II.3. VITAMIN A	19
	II.4. DOKSISIKLIN	21
	II.5. KERANGKA TEORI	23
	II.6 KERANGKA KONSEP	24
BAB III	METODOLOGI PENELITIAN	25
	III.1. Desain Penelitian	25
	III.2. Ruang Lingkup Penelitian	25
	III.3. Populasi dan Sampel	25
	III.4. Kriteria Terpakai	26
	III.5. Bahan dan Alat	27
	III.6. Cara Kerja	27
	III.7. Definisi Operasional	31
	III.8. Analisis Data	33
	III.9. Jadwal Penelitian	33
	III.10. Alur Penelitian	34

BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	35
	IV.1. Distribusi Usia, Jenis Kelamin dan Karakteristik Penderita DKM pada Kedua Kelompok Sebelum Perlakuan	36
	IV.2. Hasil Pemeriksaan Penderita DKM pada Kedua Kelompok Setelah Perlakuan	39
	IV.2.1. DKM	39
	IV.2.2. Metaplasia Epitel Konjungtiva	42
	IV.2.2.1. Sitologi Impresi	43
	IV.2.2.2. Rose bengal	47
	IV.2.3. Kualitas Musin	52
	IV.2.4. Kuantitas air mata	55
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	60
	DAFTAR PUSTAKA	61
	Lampiran	

BAB I

PENDAHULUAN

I. 1. Latar Belakang Masalah

Permukaan kornea dan konjungtiva manusia secara teratur dan berkala terpapar atmosfer luar. Untuk mencegah agar tidak mengering, permukaan ini dilindungi oleh lapisan air mata (LAM) dengan ketebalan $\pm 7 \mu\text{m}$. LAM ini mempunyai fungsi optik, mekanis, nutrisi dan antibakteri. Komponen LAM normal terdiri dari 3 lapisan yaitu lapisan lipid di bagian luar yang disekresi oleh kelenjar Meibom, lapisan akuos di bagian tengah yang merupakan produk kelenjar lakrimal, dan lapisan musin di bagian dalam dihasilkan oleh sel-sel goblet^{1,2}. Komposisi komponen yang ada serta interaksi yang terjadi dengan udara dan permukaan bola mata sangat menentukan kualitas LAM. Defisiensi lapisan-lapisan tersebut secara bersama-sama atau sendiri-sendiri dapat menimbulkan gangguan yang dikenal sebagai *dry eye*².

Disfungsi Kelenjar Meibom (DKM) adalah kelainan dimana kelenjar Meibom tidak mampu mengeluarkan lipid dengan kuantitas dan kualitas yang baik³. Insidens DKM $\pm 27\%$ dan menurut beberapa laporan DKM merupakan salah satu penyebab utama sindroma *dry eye*⁴. Patogenesis DKM hingga saat ini belum dapat dipastikan dan masih dalam penelitian. Beberapa peneliti menyatakan bahwa keratinisasi dan hiperkeratinisasi epitel saluran kelenjar Meibom mengakibatkan penyumbatan dan pelebaran saluran tersebut⁵. Peneliti lain menyatakan adanya peran bakteri pada pinggir kelopak mata yang mempunyai aktifitas sebagai enzim lipase^{5,6,7}. DKM dapat dijumpai dalam berbagai gradasi. DKM adalah salah satu faktor penyebab terjadinya *Ocular surface disorder*⁸.

DKM lebih banyak ditemukan pada wanita tua. Mathers dan kawan-kawan tahun 1996 dalam penelitiannya melaporkan kejadian DKM pada wanita lebih dari 70%⁹, sedang penelitian lain tahun 1997 tidak mendapatkan perbedaan antara laki-laki dan wanita⁸. Dalam 25 tahun mendatang populasi usia lanjut akan bertambah 82%. Indonesia bahkan merupakan negara dengan peningkatan jumlah usia lanjut terbesar. Di masa yang akan datang penyakit akibat penuaan makin banyak dijumpai, diantaranya DKM. Sehingga diduga DKM akan lebih banyak dijumpai⁹.

Pada DKM terjadi pula kerusakan konjungtiva yang penyebabnya belum diketahui dengan pasti. Perubahan ini berupa gambaran metaplasia skuamosa dengan keratinisasi epitel dan penurunan atau hilangnya sel goblet serta sel-sel non goblet permukaan mata. Keadaan ini dapat dilihat dengan tidak ada / berkurangnya ekspresi musin dan *mucin like glycoprotein* pada epitel permukaan mata. Untuk menilai kualitas musin air mata dapat dilakukan dengan tes Ferning^{10,11,12}. Metaplasia epitel permukaan mata mengakibatkan kerusakan mikrovili sel epitel, sehingga sel epitel akan mengikat warna Anilin pada pengecatan rose bengal¹³. Selain itu perubahan morfologi epitel permukaan mata dapat dilihat dengan pemeriksaan sitologi impresi^{2,3,10,14}.

Pada mata sebagai halnya pada jaringan lain, faktor-faktor pertumbuhan dan faktor neurotrofik penting dalam melakukan regulasi, proliferasi, diferensiasi, dan berlangsungnya pertumbuhan serta kelangsungan hidup sel¹⁵. Air mata mengandung vitamin A (Retinol) yang diduga berperan dalam menghambat diferensiasi terminal yang abnormal dari lapisan superfisial *ocular surface*. Sedangkan yang berperan untuk modulasi proliferasi dan diferensiasi sel lapisan dalam limbus adalah vitamin A dari pembuluh darah limbus¹⁶.

Maumenee melaporkan keberhasilannya mengobati keratinisasi konjungtiva tarsalis dengan vitamin A oral dan topikal¹⁷. Penelitian Simanjuntak, yaitu pengobatan penderita DKM dengan vitamin A oral 10.000 IU 1 x sehari selama 2 minggu dan doksisisiklin oral 2 x 100 mg sehari pada hari pertama, selanjutnya 1 x 100 mg sehari selama 2 minggu¹⁸; serta pengobatan dengan vitamin A topikal 3 x sehari selama 4 minggu dan doksisisiklin oral 2 x 100 mg sehari pada hari pertama, selanjutnya 1 x 100 mg sehari selama 4 minggu¹¹, menunjukkan perbaikan gradasi DKM.

Melihat hal-hal di atas perlu diketahui apakah kombinasi vitamin A topikal, vitamin A oral dan doksisisiklin oral mampu menghasilkan perbaikan fungsi kelenjar Meibom dan perbaikan morfologi epitel konjungtiva yang lebih baik.

I. 2. Perumusan Masalah

- Adakah perbaikan metaplasia epitel konjungtiva setelah terapi dengan vitamin A dan Doksisisiklin pada penatalaksanaan penderita DKM.

- Adakah perbedaan efek terapi vitamin A topikal dan Doksisisiklin oral dibandingkan kombinasi vitamin A topikal, vitamin A oral dan Doksisisiklin oral terhadap metaplasia epitel konjungtiva pada penatalaksanaan penderita DKM.

I. 3. Hipotesis

- Terdapat perbaikan metaplasia epitel konjungtiva setelah terapi vitamin A dan Doksisisiklin pada penatalaksanaan penderita DKM.
- Terdapat perbedaan efek terapi vitamin A topikal dan Doksisisiklin oral dibandingkan kombinasi vitamin A topikal, vitamin A oral dan Doksisisiklin oral terhadap metaplasia epitel konjungtiva pada penatalaksanaan penderita DKM.

I. 4. Tujuan Penelitian

- Membandingkan metaplasia epitel konjungtiva penderita DKM sebelum dan sesudah terapi vitamin A dan Doksisisiklin melalui pemantauan hasil perbaikan epitel konjungtiva, gradasi DKM, kualitas musin, dan kuantitas air mata.
- Membandingkan efek terapi kombinasi vitamin A topikal dan Doksisisiklin oral dengan kombinasi vitamin A topikal, vitamin A oral dan Doksisisiklin oral terhadap metaplasia epitel konjungtiva penderita DKM melalui pemantauan hasil perbaikan epitel konjungtiva, gradasi DKM, kualitas musin, dan kuantitas air mata.

I. 5. Manfaat Hasil

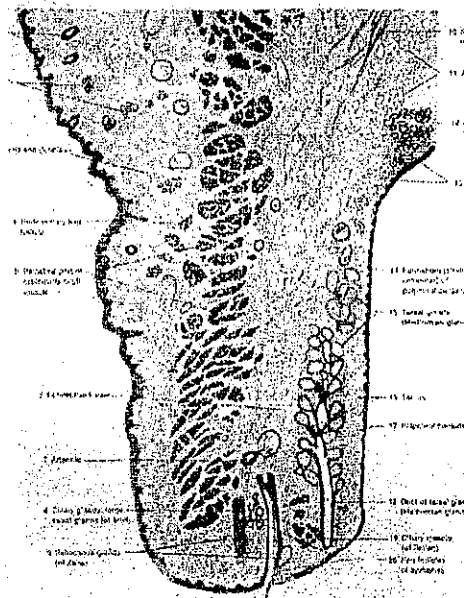
Didapatkan data yang menunjang pemberian vitamin A oral pada penatalaksanaan penderita DKM terutama gradasi sedang-berat.

BAB II

TINJAUAN KEPUSTAKAAN

II. 1. Disfungsi Kelenjar Meibom (DKM)

Kelenjar Meibom merupakan penghasil utama lapisan lipid air mata. Kelenjar ini merupakan kelenjar sebaceus yang berada di dalam tarsus, hampir seluruhnya menempati tebal tarsus, tersusun secara berderet sebaris dan vertikal terhadap margo palpebra. Jumlahnya 30 – 40 buah pada palpebra superior dan 20 – 30 buah pada palpebra inferior. Duktus ekskretoriusnya bermuara pada margo posterior palpebra superior dan inferior. (Gambar 1). Dalam keadaan normal, muara ini tampak sebagai deretan lingkaran terbuka, dan bila dilakukan penekanan pada kulit kelopak akan keluar cairan lipid berwarna jernih^{1,7,19,20}.



Gambar 1. Penampang Kelenjar Meibom²⁰

Sekresi lipid oleh kelenjar Meibom untuk membentuk lapisan luar air mata terdiri dari lemak polar (fosfolipid, trigliserid, dan *free fatty acid* / FFA) yang mudah larut dalam air dan lemak non polar (*wax* ester, sterol ester dan hidro karbon) yang sulit larut dalam air. *Wax* ester, sterol ester dan trigliserid merupakan komponen terbanyak,

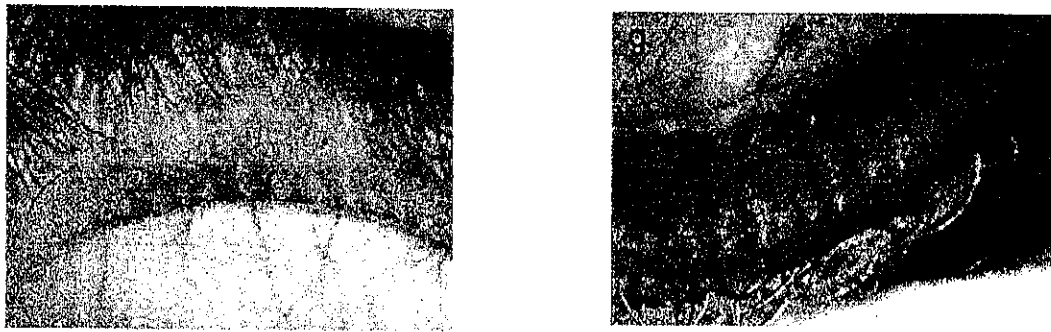
sedangkan FFA walaupun hanya terdapat dalam jumlah yang kecil tetapi merupakan komponen yang sangat penting ^{21,22}. Dalam keadaan normal FFA terdapat dalam jumlah 1,98 % dari total lipid. Gangguan keseimbangan komposisi ini akan mempengaruhi sifat fisik lapisan lipid tersebut, yaitu :

- Viskositas dipengaruhi oleh temperatur kelenjar-kelenjar tersebut. Temperatur kelenjar diperlukan untuk melelehkan dan mencampur komponen lipid. Pada keadaan normal lipid kelenjar Meibom mencair pada suhu $32^{\circ} - 36,5^{\circ} \text{C}$.
- Penyebaran di atas lapisan akuos kornea untuk mencegah penguapan. Komponen wax ester dan sterol ester bersifat hidrofobik, sebagai barier evaporasi lapisan akuos.
- Daya adesi lapisan lipid ke kulit palpebra. Perlekatan lemak ke kulit bersifat anti air, untuk mencegah air mata tumpah ke pipi dan mengarahkan air mata mengalir ke puntum lakrimal.
- Daya kohesi lapisan lipid di antara margo palpebra pada saat mata tertutup untuk mencegah permukaan kornea dari kekeringan.
- Interaksi yang dinamis antara lapisan lipid dengan udara dan lapisan akuos serta dengan kulit ²².

Abnormalitas lapisan lipid air mata sering dihubungkan dengan terjadinya DKM. DKM adalah kelainan dimana kelenjar Meibom tidak mampu mengeluarkan lipid dengan kualitas dan kuantitas yang baik. Pada DKM didapati gejala berupa rasa terbakar, sensasi benda asing dan *filmy vision*. DKM ini ditandai oleh ekspresi lipid meibum yang keruh dan terjadi kenaikan viskositas atau bahkan tidak ada ekspresi lipid sama sekali, peradangan terbatas pada margo palpebra posterior (dapat meluas ke konjungtiva dan kornea), tidak terlihat adanya muara kelenjar Meibom atau tampak sumbatan putih berkeratin yang menutupi muara, obstruksi dan dilatasi duktus kelenjar Meibom, pembesaran kelenjar asini, bahkan pada kasus yang menahun dapat terjadi atrofi asini. (Gambar 2). Berat ringannya peradangan mata bagian luar pada penderita DKM dapat bermanifestasi sebagai berikut injeksi konjungtiva tarsal dan bulbar, reaksi papil pada tarsus inferior, episkeritis, erosi epitelial puntata pada kornea inferior, infiltrat subepitelial dan epitelial pada marginal inferior kornea, pannus, kadang terjadi penipisan kornea. Beberapa kasus DKM merupakan manifestasi dari rosacea, dimana

terdapat area kemerahan pada muka, teleangiectasis, eritema, papula, pustula, hipertrofi kelenjar sebacea dan rinofima³.

Pada DKM terjadi ketidakseimbangan komposisi lipid sehingga mengakibatkan perubahan lipid yang akan disekresi. Perubahan ini menyebabkan lapisan lipid meleleh pada titik cair yang lebih tinggi sehingga adanya kondensasi lipid membuat sumbatan pada muara kelenjar Meibom. Akibatnya sekresi lipid dihambat dan memicu peradangan disekitarnya. Gangguan komposisi lipid ini mengakibatkan peningkatan evaporasi dan osmolaritas lapisan air mata (LAM)²².



Gambar 2. Disfungsi Kelenjar Meibom³

Tampak sumbatan pada muara Kelenjar Meibom

Gangguan fungsi kelenjar Meibom dapat disebabkan oleh beberapa hal yaitu :

1. Berkurangnya jumlah kelenjar Meibom⁸
2. Infeksi kronik kelenjar Meibom²¹
3. Penutupan muara kelenjar Meibom⁸

Patogenesis DKM belum jelas, diduga hiperkeratinisasi berperan pada proses penyumbatan muara dan pelebaran saluran kelenjar Meibom. Pada saat awal gangguan ditandai oleh hiperkeratinisasi pada epitel duktus kelenjar Meibom. Keratinisasi epitel duktus kelenjar mengakibatkan blokade atau stenosis duktus atau orifisium kelenjar (dibuktikan dengan mikroskop elektron). Disamping itu, meningkatnya kontribusi sel epitel dan debris seluler ke dalam ekskret kelenjar menyebabkan penebalan dan pepadatan ekskret sehingga menghambat aliran ekskret dari kelenjar. Diyakini bahwa meningkatnya keratinisasi (metaplasia skuamosa) juga mempengaruhi diferensiasi sel

asinar dan fungsi kelenjar. Proses patologi metaplasia skuamosa yang terjadi tidak hanya pada orifisium dan sekeliling margo palpebra, tetapi dapat juga sampai ke konjungtiva^{6,21,23}

Teori lainnya melaporkan peranan bakteri gram positif pada tepi palpebra yang mempunyai aktifitas sebagai enzim lipolitik dalam patogenesis terjadinya DKM. Enzim lipolitik ini akan memecah lipid (*wax* ester dan sterol ester) menjadi FFA, dimana FFA akan mempengaruhi kelarutan lipid yang lainnya pada LAM (menimbulkan perbedaan titik cair) yang akhirnya menyebabkan perubahan karakteristik LAM dan mempengaruhi stabilitas LAM. Penelitian lain menunjukkan hubungan antara peradangan Meibom dengan penurunan jumlah *wax* ester dan peningkatan jumlah sterol ester. Sterol ester memiliki titik cair yang lebih tinggi dibanding *wax* ester, sehingga kejadian ini akan meningkatkan titik cair lapisan lemak sehingga terjadi kondensasi di orifisium yang mengakibatkan dihambatnya sekresi lipid dan terjadi penurunan stabilitas LAM^{4,5,6,22}.

Hipotesis bahwa DKM mengakibatkan *dry eye* telah dibuktikan dengan penelitian penutupan muara kelenjar Meibom pada kelinci. Pada penelitian tersebut dibuktikan terjadi peningkatan osmolaritas LAM sehingga meningkatkan penguapan. Kecepatan normal penguapan air mata $0,15 \pm 0,07 \mu\text{l}/\text{menit}$ ¹⁸.

Berkurang atau hilangnya kelenjar Meibom dapat diperiksa dengan cara Meibography. Derajat hilangnya / berkurangnya kelenjar Meibom (*The degree of Meibomian gland drop out*) diberi *score* sebagai berikut :

- Gradasi 0 : tidak ada *drop out*
- Gradasi 1 : hilangnya kelenjar kurang dari $\frac{1}{2}$ tarsus inferior
- Gradasi 2 : hilangnya kelenjar lebih dari $\frac{1}{2}$ tarsus inferior⁸

Sedangkan untuk mengetahui adanya penutupan muara kelenjar Meibom dengan cara : dilakukan penekanan pada tarsus superior dengan terlebih dahulu meminta penderita melihat ke bawah dan diperiksa muara kelenjar Meibom. Hasil pemeriksaan menentukan derajat obstruksi muara kelenjar Meibom, yaitu :

- Gradasi 0 : meibum jernih mudah ditekan keluar
- Gradasi 1 : meibum keruh keluar dengan penekanan ringan
- Gradasi 2 : meibum keruh (opak) keluar dengan penekanan lebih keras
- Gradasi 3 : meibum tidak dapat keluar meskipun dengan penekanan yang keras⁸

Gangguan stabilitas LAM dapat didiagnosis dengan test NIBUT (*non invasive break up time*) dengan menggunakan tearscope plus, atau *break up time* dapat juga diperiksa dengan bantuan zat warna fluoresin untuk mewarnai *tear film*. Pada kedua test ini didapati nilai yang abnormal. Nilai normal NIBUT adalah ≥ 20 detik, sedangkan TBUT > 10 detik^{9,22}.

II. 2. Lapisan Air Mata (LAM) dan Epitel Permukaan Mata

Secara anatomis, permukaan mata ditutupi oleh keseluruhan mukosa yang dibatasi oleh kulit pada margo palpebra superior dan inferior. Secara histologis, epitel permukaan ini menutupi kornea dan konjungtiva. Untuk melindungi permukaan mata terpapar lingkungan luar, terdapat mekanisme protektif untuk mencegah kekeringan akibat penguapan serta terhadap invasi mikroba. Mekanisme protektif ini dipertahankan oleh LAM, epitel permukaan dan adneksa. Epitel permukaan mata, LAM-dan adneksa saling membutuhkan satu sama lain dan secara fungsional adalah satu kesatuan¹⁰.

II. 2. 1. Lapisan Air Mata (LAM)

LAM terdiri dari 3 lapisan yaitu lapisan lipid, lapisan akuos, dan lapisan mukus. (Gambar 3). Lapisan lipid merupakan lapisan terluar dengan ketebalan $\pm 0,1 \mu\text{m} - 0,2 \mu\text{m}$. Terutama disekresi oleh kelenjar Meibom dan sebagian oleh kelenjar Zeis dan Moll. Lapisan lipid ini mempunyai fungsi melicinkan pergerakan palpebra dan sebagai barier untuk mencegah penguapan sehingga menjaga stabilitas LAM. Lapisan akuos merupakan 90 % dari lapisan air mata, terletak di bagian tengah memiliki ketebalan $\pm 6 - 7 \mu\text{m}$, terutama disekresi oleh kelenjar lakrimal utama dan sebagian kecil oleh kelenjar Krauss dan Wolfring. Lapisan akuos mengandung elektrolit (natrium, klorida, kalium, bikarbonat, kalsium, magnesium dan zink), glukosa, oksigen, urea, askorbat, asam amino, imunoglobulin (A, G, M, D, E), lisozym, β lisin, laktoferin dan interferon. Lapisan akuos berperan sebagai perantara lewatnya oksigen ke kornea. Lapisan yang ketiga merupakan lapisan yang paling dalam adalah lapisan musin. Lapisan ini mempunyai ketebalan $\pm 0,03 \mu\text{m}$, terutama dihasilkan oleh sel-sel goblet, selain itu juga dihasilkan oleh epitel permukaan konjungtiva dan kornea. Mengandung komponen utama mukus glikoprotein. Musin yang dihasilkan oleh sel goblet disebut *O-linked mucin*,

sedangkan yang dihasilkan oleh sel epitel permukaan kornea dan konjungtiva disebut *N-linked mucin* atau *mucin like glycoprotein*. Lapisan musin menyelimuti permukaan epitelium sehingga menyebabkan turunnya tegangan permukaan dan permukaan menjadi lebih hidrofilik sehingga lapisan akuos dapat tersebar merata di seluruh permukaan kornea dan konjungtiva. Dengan demikian lapisan ini memegang peranan penting dalam kemampuan membasahi permukaan bola mata dan pemeliharaan stabilitas lapisan air mata^{1,2,21,22,24}.

Gambar 3. Struktur dan Komposisi Lapisan Air Mata²¹

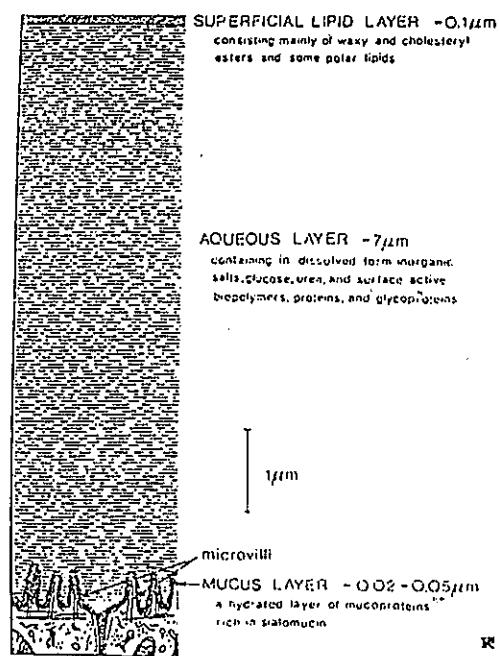


Fig. 1. Structure and composition of the tear film

Selain memelihara epitel konjungtiva dan kornea agar tetap lembab, lapisan air mata juga mempunyai fungsi membentuk permukaan refraksi yang baik, melicinkan pergerakan palpebra, sebagai anti bakteri, dan sebagai pemasok nutrisi dan oksigen yang diperlukan oleh epitel^{1,2}.

Fungsi air mata dapat dibagi menjadi 2, yaitu *tear surfacing* dan *tear wet-ability*. *Tear surfacing* adalah kemampuan air mata untuk dapat menyebar merata di atas permukaan konjungtiva dan kornea, sedangkan *tear wet-ability* kemampuan air mata untuk menyebar secara terus menerus sebagai lapisan tipis membasahi permukaan mata. *Tear surfacing* akan terganggu jika terdapat perubahan morfologi epitel permukaan mata

atau lagofthalmos. *Tear wet-ability* terganggu apabila terdapat perubahan kualitas lipid dan musin²².

Volume air mata dalam keadaan normal adalah 7,4 μL , dengan pH rata-rata 6,5 – 7,6, dan osmolaritas 296 – 308 mOsm/L^{1,25}. Stabilitas LAM dipertahankan oleh ketiga komposisi LAM, palpebra, epitel konjungtiva dan kornea, serta dipengaruhi oleh integrasi neuroanatomis. Defisiensi lapisan lipid antara lain disebabkan oleh DKM. Pada penderita DKM akan didapatkan hasil BUT (*break up time*) yang memendek, waktu penguapan yang cepat dan osmolaritas yang tinggi. Defisiensi akuos disebabkan oleh defek pada kelenjar lakrimalis atau kelainan sistemik yang menyebabkan menurunnya sekresi kelenjar lakrimalis. Adanya gangguan pada lapisan akuos dapat dideteksi dengan test Schirmer. Defisiensi musin dapat disebabkan oleh defisiensi vitamin A, sindroma Steven Johnson, pemfigoid okuler, dan trauma alkali yang mengakibatkan rusaknya sel goblet. Untuk menilai kualitas musin dapat dilakukan dengan test fernaling^{2,4,10,21,22}.

Seperti diketahui palpebra memegang peranan penting dalam proses pemerataan LAM melalui proses berkedip, dimana frekuensi berkedip orang normal adalah 12 – 15 kali / menit. Selain meratakan air mata, reflek berkedip juga menyapu debris pada permukaan kornea dan konjungtiva. Adanya kelainan bentuk dan fungsi palpebra akan mengganggu proses pemerataan LAM. Kelainan tersebut antara lain : entropion, ektropion, simblefaron, koloboma, dan lagofthalmos²⁶.

Ada hubungan yang erat antara epitel permukaan kornea dan konjungtiva dengan LAM, dimana perubahan morfologi pada epitel kornea dan konjungtiva akan mempengaruhi stabilitas air mata, demikian pula sebaliknya dimana gangguan stabilitas air mata akan menimbulkan gangguan pertahanan selaput permukaan mata (*ocular surface*) yang berakibat timbulnya metaplasia pada epitel permukaan mata^{8,10,27}.

II. 2. 1. 1. Test Schirmer

a. Test Schirmer tanpa anestesi

Tujuan test ini untuk mengetahui produksi kelenjar lakrimalis mayor dan asesoris atau menguji sekresi basal dan refleksi sekresi. Dilakukan dengan cara meletakkan kertas Whatman no 41 yang telah dilipat ujungnya pada forniks

konjungtiva inferior 1/3 lateral selama 5 menit. Normal bila $> 10 - 35$ mm atau rata-rata 20 mm, abnormal bila < 5 mm^{2,4,21}.

b. Test Schirmer dengan anestesi

Tujuan test ini untuk mengetahui produksi kelenjar lakrimalis asesoris atau menguji sekresi basal. Dengan pemberian anestesi lokal dapat diabaikan adanya refleks sekresi yang disebabkan oleh kertas Whatman. Dilakukan dengan cara mata ditetes dengan pantokain, kemudian meletakkan kertas Whatman no 41 yang telah dilipat ujungnya pada forniks konjungtiva inferior 1/3 lateral selama 5 menit. Rata-rata pada orang normal 12 mm, abnormal bila hasilnya < 3 mm^{2,4}.

II. 2. 1. 2. Test Ferning

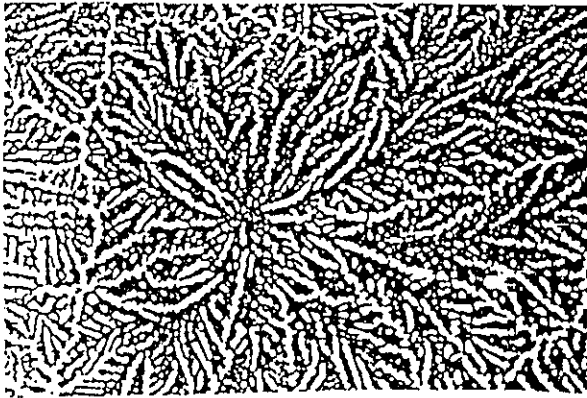
Tes ferning merupakan uji klinis terhadap kualitas lapisan musin air mata yang relatif murah, sederhana dan dapat dipercaya karena mempunyai tingkat spesifisitas maupun sensitivitas yang tinggi pada sindroma *dry eye*. Diperkenalkan pemakaiannya di bidang oftalmologi oleh Tabara dan Okumoto. Fenomena ferning terjadi oleh karena adanya interaksi garam NaCl dengan glikoprotein yang mempunyai berat molekul tinggi. Perubahan kadar garam NaCl dan gugus gula yang terikat pada protein lapisan musin menyebabkan timbulnya berbagai gambaran corakan daun pakis. Mekanisme dan senyawa kimia yang terlibat untuk terjadinya kristalisasi pada fenomena ferning sampai saat ini belum diketahui dengan pasti. Adanya gambaran pakis yang padat menunjukkan keseimbangan yang baik antara musin dan elektrolit^{12,22}.

Pola corakan uji ferning terdiri atas 4 tipe (Gambar 4) :

- Tipe 1 : Gambaran daun pakis yang seragam tanpa ruang kosong diantaranya. Satu pakis besar dengan cabang-cabang yang rapat.
- Tipe 2 : Gambaran daun pakis hampir sama dengan tipe 1, akan tetapi tiap kelompok pakis mempunyai cabang-cabang yang lebih pendek dan terdapat ruang kosong diantaranya.
- Tipe 3 : Gambaran daun pakis hanya terlihat sebagian. Ukuran tiap kelompok pakis kecil dan mempunyai cabang yang jarang atau tidak lengkap. Tampak ruangan-ruangan besar yang kosong atau gumpalan musin yang tidak berbentuk.

- Tipe 4 : Tidak tampak adanya bentuk daun pakis. Musin tampak sebagai gumpalan atau jaras benang. Keadaan ini disebabkan oleh adanya kontaminasi atau mukus yang telah degenerasi bercampur dengan sel-sel²².

Gambaran tipe 1 dan 2 adalah keadaan musin yang berkualitas normal, dengan viskositas mukus yang rendah, sehingga mampu berdistribusi merata pada permukaan mata. Gambaran tipe 3 menunjukkan kemampuan musin yang rendah untuk mempertahankan fungsinya. Gambaran tipe 4 menunjukkan kerusakan struktur musin. Pada populasi normal air mata menunjukkan 82,7 % bentuk tipe 1 dan 2. Pada penderita dry eye 91,7 % menunjukkan gambaran tipe 3 dan 4. Tipe 3 merupakan kelompok transisi, karena bisa dijumpai pada 15,5 % mata normal²².



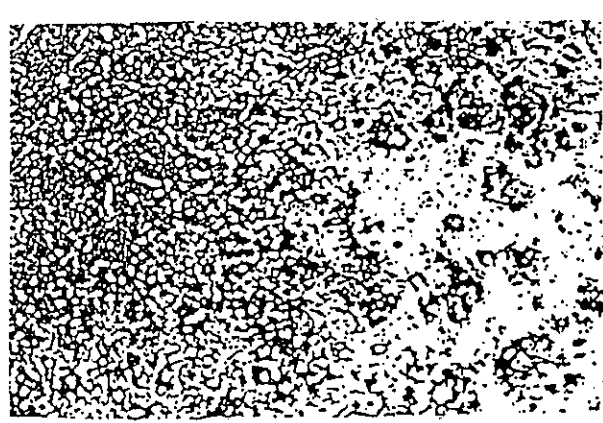
Ferning tipe 1



Ferning tipe 2



Ferning tipe 3



Ferning tipe 4

Gambar 4 : Corakan Ferning⁹.

II. 2. 2. Metaplasia Epitel Konjungtiva

Konjungtiva merupakan lapisan mukosa tipis yang melapisi tarsus palpebra, forniks dan bagian depan bulbus okuli. Konjungtiva berawal dari *mucocutaneous junction* margo palpebra dan di limbus berfusi dengan kapsul Tenon. Pada aplikasi klinis dibagi menjadi konjungtiva palpebra, forniks dan konjungtiva bulbi²⁸.

Konjungtiva mempunyai 2 lapisan yaitu lapisan epitel dan stroma. Epitel konjungtiva merupakan epitel kolumnar berlapis yang terdiri dari 2 – 5 lapis sel-sel berukuran 15 – 25 μm dengan nukleus besar, berbentuk bulat agak eksentrik. Sitoplasmanya tampak besar, bersifat basofilik dan sedikit granuler. Pada daerah limbus dan *mucocutaneous junction* margo palpebra terjadi perubahan bentuk sel-sel epitel menjadi berbentuk skuamosa berlapis^{26,28}.

Epitel konjungtiva mengandung sel goblet yang berfungsi mensekresi musin yang berguna untuk melumasi kornea dan konjungtiva. Sel goblet terletak pada lapisan superfisial dan lapisan tengah epitel konjungtiva. Kadang-kadang dijumpai pula pada lapisan basal. Kepadatan sel goblet lebih tinggi pada konjungtiva bagian inferonasal dan plika semilunaris. Pada daerah limbus tidak ditemukan sel goblet. Nelson menghitung kepadatan sel goblet konjungtiva bulbi pada orang normal 443 ± 266 sel/mm²⁹. Kessing melakukan penelitian kepadatan sel goblet pada berbagai tingkatan umur dan disimpulkan bahwa jumlah sel goblet relatif konstan, walaupun demikian dapat dipengaruhi oleh adanya berbagai macam faktor yang dapat menaikkan atau menurunkan jumlah sel pada berbagai tingkatan umur. Setelah terjadi peningkatan yang cepat pada masa pertumbuhan selama tahun pertama kehidupan, kemudian meningkat secara perlahan-lahan pada anak-anak dan pada masa dewasa relatif konstan yaitu sekitar 30 – 70 sel / 0,1 mm permukaan mukosa. Berkurangnya jumlah atau kepadatan sel goblet pada konjungtiva dapat berakibat kekeringan pada mata³⁰. Patogenesis bagaimana berkurang atau hilangnya sel goblet sampai saat ini belum dapat dijelaskan dengan pasti. Tseng dkk menduga bahwa hilangnya vaskularisasi dan inflamasi berat memegang peranan penting pada kerusakan ini^{10,31}.

Integritas permukaan konjungtiva sangat ditentukan oleh karakter epitelnya dan oleh produksi musin dari sel goblet. Kondisi patologis konjungtiva akan menimbulkan perubahan histologi dan fisiologi konjungtiva yang disebut dengan metaplasia skuamosa

akibat dari diferensiasi epitel konjungtiva yang abnormal. Pada metaplasia konjungtiva akan terjadi perubahan fungsi dari bagian sekretori dan non sekretori menjadi non sekretori semua, bertambahnya stratifikasi epitel dan transisi lapisan epitel yang semula non keratin menjadi berkeratin. Gambaran morfologi epitel konjungtiva dan sel goblet dapat diperiksa dengan sitologi impresi^{2,10,14,31,32}. Metaplasia epitel menyebabkan mikrovili sel epitel permukaan konjungtiva rusak sehingga musin tidak terikat, yang akan memberikan pola pewarnaan pada pengecatan Rose Bengal. Lee dkk melaporkan rusaknya epitel permukaan konjungtiva pada DKM selaras dengan didapatkannya pewarnaan Rose Bengal terutama pada zona yang tidak terpapar. Pada DKM gradasi 2 dan 3 diduga telah terjadi kerusakan epitel permukaan mata yang lebih berat^{12,23}.

Berdasarkan gambaran morfologi epitel konjungtiva dan sel goblet, Nelson mengembangkan suatu sistem gradasi untuk menilai derajat metaplasia. Dengan pengecatan PAS dan hematoksilin, Nelson membagi perkembangan metaplasia konjungtiva dalam 3 derajat (Gambar 5) :

- Derajat 0 : sel epitel kecil, bulat dengan sitoplasma eosinofilik, rasio nukleus dibanding sitoplasma 1 : 2. Sel goblet banyak, lonjong dan berisi, pewarnaan PAS positif.
- Derajat 1 : sel epitel agak membesar, poligonal dengan sitoplasma eosinofilik, nukleus kecil. dengan rasio nukleus dibanding sitoplasma 1 : 3. Sel goblet berkurang, lonjong dan masih berisi, pewarnaan PAS positif.
- Derajat 2 : sel epitel lebih besar, poligonal, multi nukleus, dengan sitoplasma bervariasi, dengan rasio nukleus dibanding sitoplasma 1 : 4 – 1 : 5. Sel goblet sangat berkurang, mengecil, pewarnaan PAS positif lemah dan batas kabur.
- Derajat 3 : sel epitel besar, poligonal, dengan sitoplasma basofilik, nukleus kecil, piknotik kadang tidak ditemukan, dengan rasio nukleus dibanding sitoplasma 1 : 6. Tidak ada sel goblet¹⁴.

Tseng mengganti pengecatan hematoksilin dengan pengecatan papanicolau yang lebih baik dalam menampilkan perubahan metakromasi sitoplasma, keratinisasi epitel, serta gambaran inti sel. Hasilnya, dia dapat membagi tahapan metaplasia skuamosa menjadi 6 stadium berdasarkan gambaran sitologi sebagai berikut : ada tidaknya sel

goblet dan kepadatan sel goblet, perubahan morfologi nukleus, rasio nukleus sitoplasma, dan perubahan warna sitoplasma menjadi metakromik (Gambar 6)³².

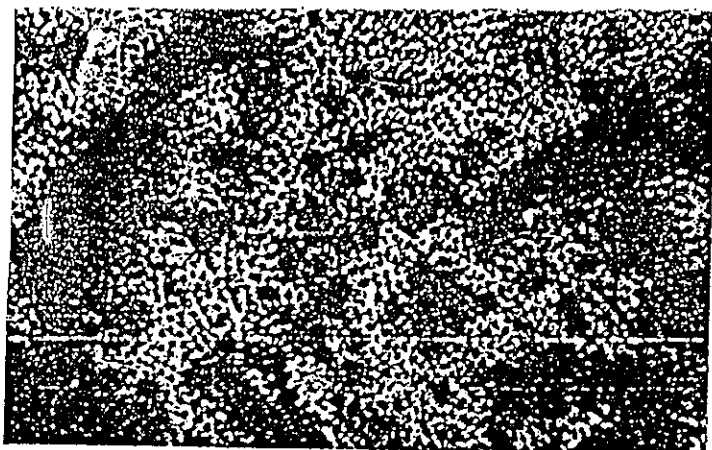


Fig 1.—Impression cytology grade 0. Note small, round epithelial cells with large nuclei with nucleocytoplasmic ratio of 1:2. Goblet cells (arrow) are abundant, plump, and oval, with intensely PAS-positive cytoplasm (PAS-hematoxylin, original magnification X100).

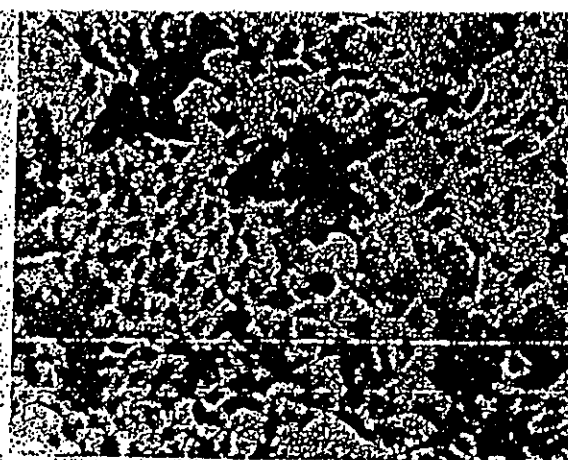


Fig 2.—Impression cytology grade 1. Note slightly larger, more polygonal epithelial cells. Nuclei are smaller, with nucleocytoplasmic ratio of 1:3. Goblet cells are decreased in number although they still maintain their plump, oval shape, with intensely PAS-positive cytoplasm (PAS-hematoxylin, original magnification X100).

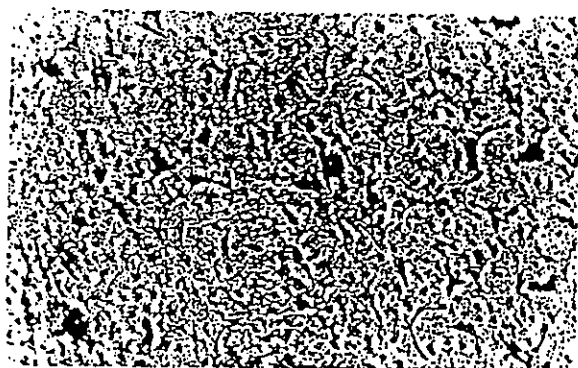
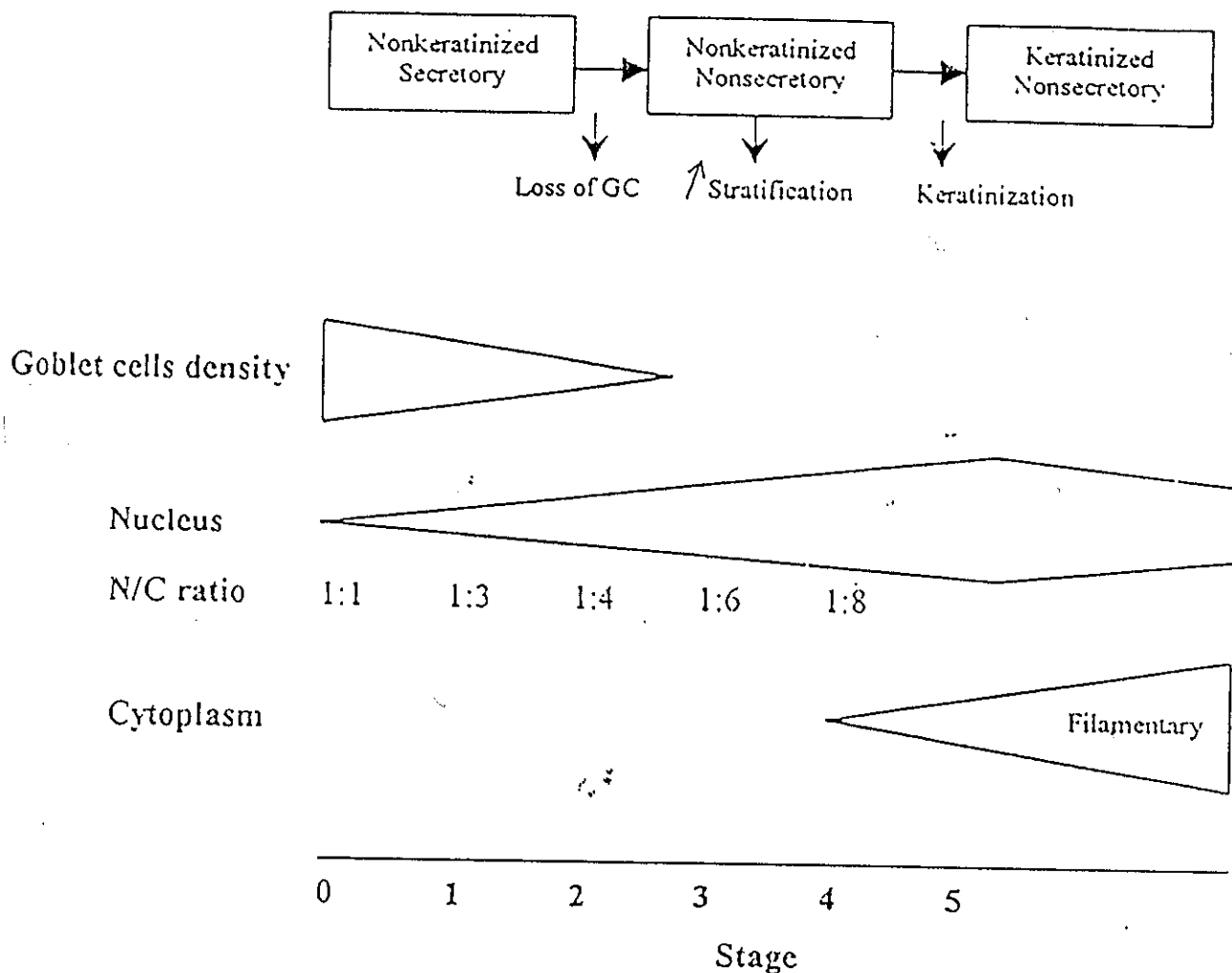


Fig 3.—Impression cytology grade 2. Note epithelial cells are larger than grade 1 cells, with polygonal, occasionally multinucleated cells with variably staining cytoplasm. Nuclei are small, with nucleocytoplasmic ratio of 1:4 to 1:5. Goblet cells are markedly decreased in number and are smaller, less intensely PAS-positive, with poorly defined cellular borders (PAS-hematoxylin, original magnification X100).



Fig 4.—Impression cytology grade 3. Note epithelial cells are large and polygonal. Nuclei are small, pyknotic, and, in many cells, completely absent. Nucleocytoplasmic ratio is greater than 1:6. Goblet cells are completely absent (PAS-hematoxylin, original magnification X100).

Gambar 5. Gradasi Metaplasia Konjungtiva menurut Nelson¹⁴



Gambar 6. Skema Derajat Metaplasia menurut Tseng³².

Metaplasia skuamosa konjungtiva diketahui terjadi pada defisiensi vitamin A, sindroma *dry eye*, keratokonjungtivitis sika, keratokonjungtivitis kronis, trakhoma, sindroma Steven Johnson, pemfigoid okuler dan trauma alkali. Selain itu metaplasia juga terjadi akibat pemakaian obat tetes mata anti glaukoma dalam jangka lama dan akibat iritasi kronis pada mata^{10,31}. Penyebab kerusakan konjungtiva pada DKM belum diketahui dengan pasti, diduga elemen patogenik inflamasi yang terdapat pada dan di sekitar muara kelenjar Meibom tersebar sampai ke konjungtiva dan selanjutnya menyebabkan perubahan epitel permukaan konjungtiva²³. Teori lain mengemukakan bahwa perubahan komposisi lemak mengakibatkan peningkatan evaporasi dan

osmolaritas LAM yang secara langsung ataupun tidak langsung mengakibatkan gangguan permukaan mata^{6,22}.

II. 2. 2. 1. Sitologi Impresi

Egbert dkk memperkenalkan suatu metoda untuk mendapat sel-sel selaput permukaan mata tanpa memerlukan pembedahan dan caranya relatif sederhana. Metoda ini menggunakan filter selulose asetat (Millipore) pernah disebut sebagai biopsi konjungtiva, atau lebih tepatnya disebut sebagai *cellulose acetate impression* atau *conjunctival impression cytology*. Metode yang serupa dilakukan oleh Adam¹⁴.

Sitologi impresi merupakan prosedur biopsi konjungtiva yang sederhana, tidak invasif, aman dan tidak menimbulkan rasa sakit pada penderita. Dengan pemeriksaan ini dapat diketahui gambaran morfologi sel-sel epitel dan sel goblet pada konjungtiva. Dalam perkembangan selanjutnya teknik ini digunakan untuk menilai morfologi mukus konjungtiva dan sekarang banyak digunakan untuk menghitung kepadatan sel goblet pada berbagai kelainan konjungtiva. Selain itu sitologi impresi dapat mendeteksi adanya bakteri dan jamur pada konjungtiva¹⁴.

Cara melakukan sitologi impresi adalah sebagai berikut :

- Mata penderita ditetes dengan anestesi topikal (proparacain 0,5 %), dan dibuka dengan bantuan *eye speculum*
- kertas filter selulose asetat (Millipore) dipotong dalam ukuran 5 x 10 mm
- dengan bantuan forsep tidak bergigi kertas filter ditempatkan pada konjungtiva dengan permukaan yang kasar menghadap konjungtiva.
- kertas filter ditekan-tekan pada konjungtiva selama beberapa detik dengan *glass rod*
- filter diangkat dengan hati-hati dan diletakkan dalam gelas petri atau tabung reaksi yang berisi etanol 95 % selama 10 menit
- Kemudian dibilas dengan aqua destilata selama 5 menit
- Filter diberi *periodic acid* 0,5 % selama 3 – 5 menit, kemudian dibilas dengan aqua destilata.
- Diberi reagen *Schiff* selama 5 menit, kemudian diirigasi dengan air kran sampai warna pink (kira-kira 5 menit).
- Diberi pewarnaan hematoksilin 1 menit, dibilas air kran

- Dichelup sebentar dalam *acid alcohol* dan segera dicelup dalam bak air beberapa kali
- Terakhir dicelup dalam litium karbonat atau air amonia 1 % dan dibilas dengan air kran dan aqua destilata
- Kertas filter diletakkan di atas gelas objek dan dikeringkan (diatas piring panas atau suhu kamar selama 1 malam).
- Berikutnya diberi minyak emersi dan ditutup *deck glass* atau dibilas dengan xylene dan diletakkan permanen di atas gelas objek
- Filter diperiksa di bawah mikroskop dan ditentukan gradasinya menurut Nelson ¹⁴.

II. 2. 2. 2. Test Rose Bengal

Cara lain untuk melihat gangguan akibat perubahan epitel permukaan mata adalah dengan menggunakan pewarnaan rose bengal. Rose bengal adalah salah satu derivat fluoresin, merupakan pewarna anilin merah. Pewarna anilin merah akan mengikat gugus basa protein pada sel epitel yang mengalami keratinisasi atau epitel yang tidak utuh berdasarkan kemampuannya mengikat zat warna. Hal ini dimungkinkan karena kemampuan rose bengal untuk mewarnai nukleus dan protoplasma sel. Dengan terjadinya metaplasia epitel permukaan, mikrovili sel epitel permukaan akan mengalami kerusakan sehingga lapisan musin tidak dapat berikatan dengan epitel permukaan mata, dan epitel yang berdegenerasi dapat diwarnai oleh rose bengal ^{2,12,21,24}.

Pada defisiensi akuos, rose bengal hanya mewarnai zona interpalpebra. Tseng melaporkan bahwa pada defisiensi lipid, penyebaran elemen peradangan sampai ke konjungtiva tarsal dan bulbar, yang menyebabkan kerusakan epitel permukaan konjungtiva. Rose bengal tidak hanya mewarnai daerah yang terpapar saja tetapi juga mewarnai daerah yang tidak terpapar di bawah kelopak mata. Pada obstruksi atau tidak terdapatnya kelenjar Meibom, pewarnaan rose bengal akan memperlihatkan hasil dengan gambaran kerusakan yang lebih berat ²³.

Cara menilai pemeriksaan rose bengal yaitu dengan melihat intensitas warna pada 5 zona (konjungtiva nasal, temporal, superior, inferior, dan kornea). Kemudian disimpulkan derajat test rose bengal dengan menghitung penjumlahan skor pewarnaan untuk 5 zona, yaitu :

- 0 : tidak ada pewarnaan

- 1 : pewarnaan titik-titik
- 2 : pewarnaan berupa bercak-bercak tidak merata
- 3 : pewarnaan merata⁹.

II. 3. Vitamin A

Vitamin A termasuk ke dalam kelompok vitamin yang larut dalam lemak. Vitamin A tidak dapat disintesis oleh tubuh dalam jumlah yang cukup oleh karena itu harus dipasok lewat makanan sehari-hari. Salah satu bentuk analog vitamin A yaitu *All-trans-retinol* yang jika cukup tersedia dalam makanan akan dapat menjalankan fungsi vitamin A untuk pertumbuhan dan diferensiasi sel. Sedangkan *All-trans-retinoic acid* (tretinoin) merupakan komponen kecil dari makanan dan tidak dapat memenuhi keseluruhan fungsi vitamin A. Retinal bertanggungjawab untuk fungsi penglihatan, retinol dalam kegiatan reproduksi sedangkan *retinoic acid* menjalankan fungsi yang berhubungan dengan pertumbuhan, diferensiasi dan transformasi^{17,33}.

Salah satu produk obat ini yang tersedia adalah retinol. Dosis pemeliharaan retinol untuk orang dewasa adalah 4.000 – 5.000 IU per hari, sedangkan untuk pengobatan adalah 20.000 – 50.000 IU 2-3 kali per hari. Vitamin A yang diberikan secara sistemik akan diabsorpsi sempurna melalui saluran cerna dan dibawa oleh *retinol binding protein*, meningkat dalam darah, mencapai puncak setelah 4 – 6 jam pemberian, dan disimpan di hati serta bertahan 4 – 6 bulan. Metabolit vitamin A sistemik diekskresi melalui urin dan feses. Kadar normal vitamin A dalam plasma adalah 100 – 230 unit/100 ml ($\pm 55 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$). Selama cadangan vitamin A di hepar cukup, kadar normal akan dipertahankan. Gejala defisiensi vitamin A timbul bila kadar plasma di bawah $10 - 20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ^{33,34}.

Metabolisme retinol menjadi *retinaldehyde* terjadi di hati, retina dan usus. Metabolit retinol terdiri dari *retinoic acid*, *retinyl phosphate*, *retinyl ester*, *retinaldehyde*, *3,4 didehydroretinol* atau isomer retinol. Analisis yang didapat dari cairan air mata kelinci, tikus, kera, serta manusia memperlihatkan bahwa vitamin A yang terdapat pada air mata berbentuk sebagai *all-trans retinol*. Konsentrasi retinol pada air mata berkisar antara 0,4 – 10,6 ng/ml. Konsentrasi vitamin A pada serum didapatkan 1000 x lebih tinggi daripada di dalam air mata. Sekresi retinol ke cairan air mata akan memberikan nutrisi ke epitel permukaan mata dan merangsang sel epitel basalis untuk memproduksi

sel epitel yang akan menghasilkan mukus. Keadaan ini disebabkan oleh karena lapisan sel-sel epitel permukaan kornea dan konjungtiva mengandung *retinol binding protein* dan *retinoic acid binding protein* ^{11,34}.

Telah dibuktikan bahwa kekurangan vitamin A mengakibatkan metaplasia konjungtiva yang selanjutnya berdampak pada defisiensi musin. Pemakaian vitamin A topikal untuk pengobatan pada penyakit-penyakit mata sudah banyak dilaporkan. Tseng dkk mencoba memberikan vitamin A (tretinoin) topikal dengan dosis tiga kali sehari untuk memulihkan kembali epitelium permukaan mata yang telah mengalami keratinisasi sehingga terjadi penurunan metaplasia sel konjungtiva. Maumenee melaporkan pemberian vitamin A topikal (palmitat) pada kasus metaplasia epitel akibat hipovitaminosis A yang memperlihatkan perbaikan dalam beberapa hari sampai 2 minggu. Armstrong menunjukkan bahwa perbaikan sel goblet baru terjadi pada minggu ke 3. Laporan lain pada penderita dengan defisiensi vitamin A menunjukkan perbaikan sel goblet sudah terlihat dalam 2 – 4 minggu, sedangkan pada kasus-kasus trauma alkali perbaikan baru terjadi pada minggu ke 4 – 6. Pada kerusakan epitel permukaan mata yang ringan pemberian vitamin A satu kali sehari, sedangkan apabila telah terjadi kerusakan yang berat diberikan tiga sampai lima kali ^{11,16,34}.

Mekanisme kerja vitamin A topikal ini pada tingkat seluler dalam menormalisasi kembali epitel yang telah mengalami metaplasia serta meningkatkan kembali densitas sel goblet masih belum terungkap seluruhnya. Kaul dkk menduga kemungkinan kerja vitamin A yaitu mempengaruhi ekspresi gen sehingga terjadi perubahan ekspresi glikoprotein. Sekarang telah dikenal berbagai reseptor *retinoic acid* yang terikat pada DNA dan melakukan regulasi ekspresi gen. Adanya berbagai reseptor *retinoic acid* menunjukkan adanya bermacam-macam *efektivitas retinoic acid* dan bermacam-macam spesifikasi *retinoic acid*. Efek *retinoic acid* dalam modulasi proliferasi dan diferensiasi sel epitel sangat tergantung dosis. *Retinoic acid* menghambat diferensiasi terminal abnormal tetapi menstimuli diferensiasi terminal normal. Vitamin A mempermudah diferensiasi epitel permukaan mata dan pembentukan mikrovili serta glikokaliks. Keadaan ini akan menyebabkan perbaikan ekspresi *mucin like glycoprotein* yang selanjutnya menormalkan epitel permukaan mata ^{16,17}.

Pemberian vitamin A oral dapat menimbulkan hipervitaminosis. Toksisitas vitamin A dapat terjadi kalau pemberian oral vitamin A lebih dari 35.000 IU/hari selama beberapa bulan atau beberapa tahun. Toksisitas pernah terjadi pada seorang anak kecil yang mendapat vitamin A sesuai *Recommended Daily Allowance* (RDA) selama beberapa tahun. Pada orang dewasa pernah terjadi toksisitas pada pemberian vitamin A dengan dosis lima kali dosis RDA selama 7 sampai 10 tahun. Toksisitas akut terjadi pada pemberian oral vitamin A dosis tunggal sebesar 1.500.000 IU pada orang dewasa dan 300.000 IU pada bayi. Pada orang dewasa gejala toksisitas adalah pusing, nausea, muntah, dan eritema dengan deskuamasi, yang tetap ada selama beberapa minggu. Pada bayi gejala toksisitas termasuk hidrosefalus dan muntah, pseudotumor serebri, tinitus, dll. Pemberian dosis besar pada ibu hamil tidak dianjurkan karena teratogenik. Telah dilaporkan kelainan pada seorang anak yang ibunya minum vitamin A 25.000 IU setiap hari selama kehamilan bulan pertama ³³.

II. 4. Doksisiklin

Doksisiklin adalah derivat tetrasiklin yang mempunyai efek kerja lama. Mekanisme kerja doksisiklin yaitu dengan mengikat ribosom 30s secara spesifik, sehingga diduga terjadi kesalahan membaca kode genetik yang menyebabkan terganggunya sintesis protein. Doksisiklin juga mengurangi aktifitas lipase dan kolagenase. Seperti telah dikemukakan sebelumnya, lipase yang diproduksi beberapa jenis kuman akan mengubah lipid yang diproduksi kelenjar Meibom menjadi FFA. Diperkirakan bahwa doksisiklin menurunkan produksi faktor inflamasi mikroba seperti aktivator komplemen, faktor kemotaktik neutrofil, dan faktor pelepasan hidrolase lisosomal ³³.

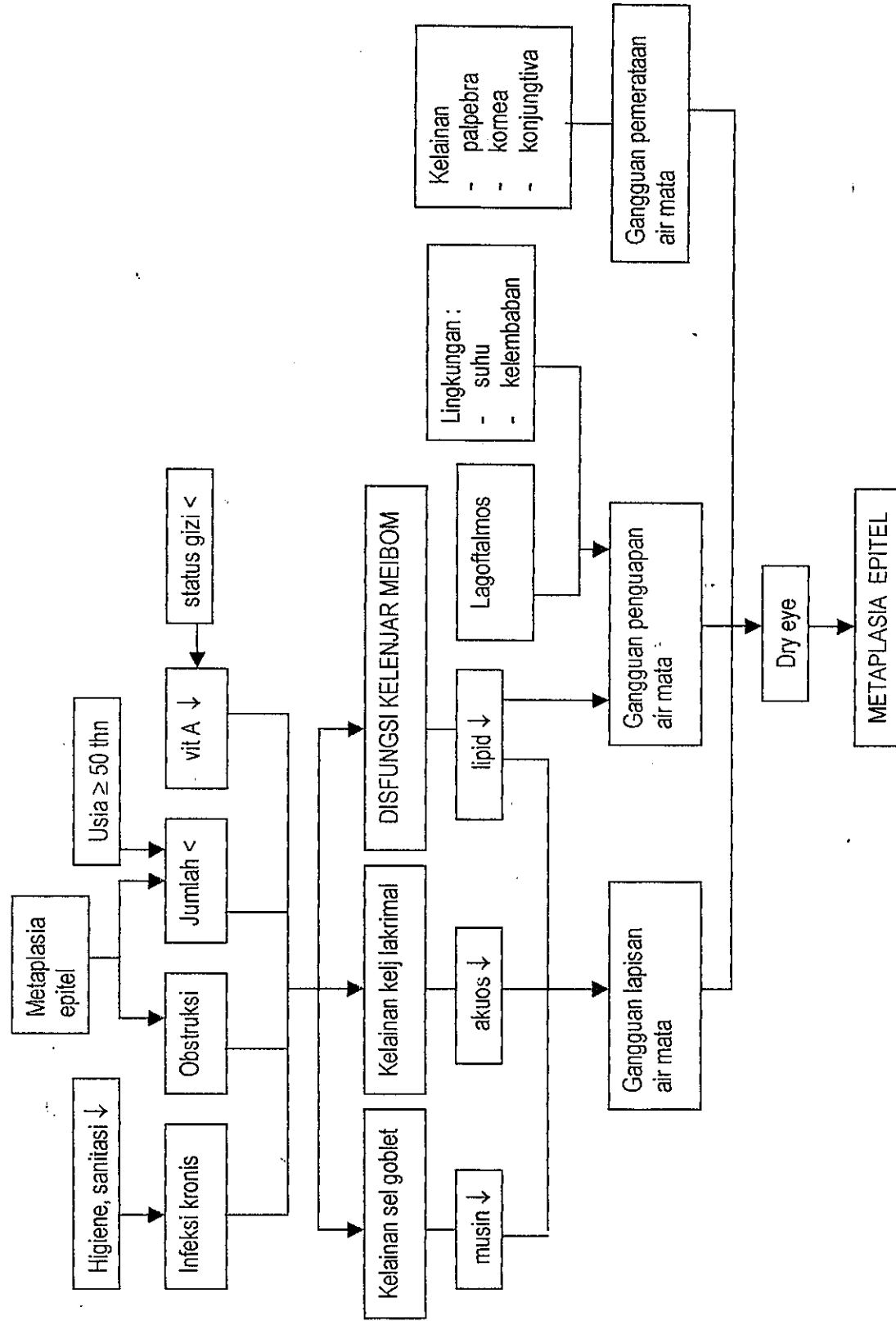
Doksisiklin bersifat lipofilik, sehingga dapat masuk dalam air mata dalam konsentrasi efektif. Tetrasiklin oral tidak dapat mencapai konsentrasi efektif dalam air mata. Waktu paruh doksisiklin 16 – 18 jam. Dosis doksisiklin adalah 100 mg tiap 12 jam pada hari pertama. Hari-hari berikutnya diberikan 100 mg setiap hari. Kadar puncak di serum 3 µg/ml dicapai 2-3 jam setelah pemberian ³³.

Doksisiklin pada wanita hamil, wanita menyusui dan anak-anak dapat berakibat depresi sementara pertumbuhan tulang dan pada janin berakibat pewarnaan gigi yang permanen. Tetapi efek pewarnaan gigi oleh karena doksisiklin lebih sedikit dibanding

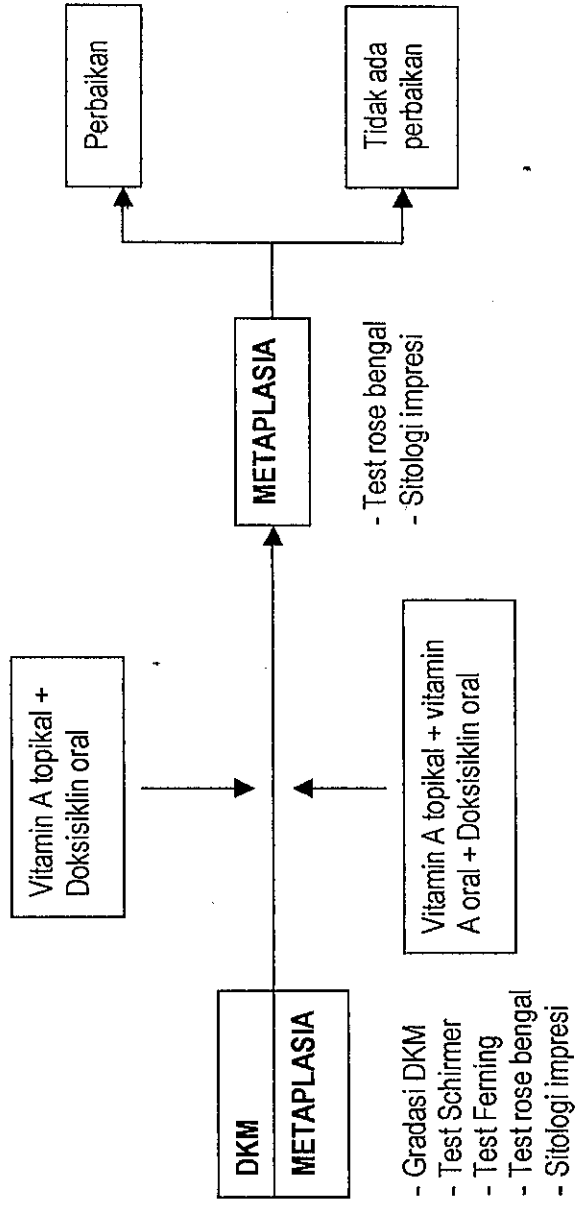
tetrasiklin. Tetrasiklin menimbulkan berbagai tingkatan iritasi gastrointestinal pada beberapa penderita bila diberikan oral. Efek samping yang sering timbul adalah anoreksia, nausea, muntah, *flatulence* dan diare, mulut kering, keluhan pada tenggorokan, gangguan hati dan ginjal. Reaksi ini tidak merusak, tetapi dapat berat sehingga pemberian obat dihentikan. Pemberian bersama makanan mengurangi iritasi, tetapi dapat mengurangi absorpsi terutama pada tetrasiklin. Absorpsi tetrasiklin yang jelek mungkin menyebabkan diare dan gangguan flora enterik. Doksisiklin *hyclate* sangat asam, dengan pH 3,0 sehingga dapat menyebabkan ulserasi esofageal, yang menyebabkan rasa sakit retrosternal, yang menjadi lebih sakit saat menelan. Untuk mencegah hal di atas, setelah minum obat dengan satu gelas air (240 ml), penderita diminta tetap tegak selama minimal 90 detik. Mungkin terjadi fotosensitiviti. Doksisiklin tidak begitu dipengaruhi bila diminum bersama susu, antasid, vitamin dan preparat mineral. Eliminasi doksisiklin adalah melalui feses, sedangkan tetrasiklin melalui ginjal ³³.

Perbaikan stabilitas LAM penderita DKM dengan doksisiklin telah dilaporkan dengan lama pengobatan 2 minggu ⁵ dan 4 minggu ¹¹. Bersama dengan vitamin A, meibomianitis dapat sembuh dengan pengobatan golongan tetrasiklin dan pengobatan dapat dihentikan dalam 3 bulan ⁶. Doksisiklin oral 100 mg/hari selama 6 minggu dan 50 mg/hari selama 3 bulan aman digunakan ³⁵.

II. 5. KERANGKA TEORI



II. 6. KERANGKA KONSEP



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

III. 1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental terkontrol (uji klinis) secara acak tersamar.

III. 2. Ruang Lingkup Penelitian

1. Tempat penelitian : dilakukan di Instalasi Rawat Jalan SMF Mata RSUP Dr Kariadi Semarang.
2. Waktu penelitian : 12 bulan (Januari 2002 sampai Januari 2003). Pengambilan sampel 8 bulan dimulai Februari 2002 – Oktober 2002.

III. 3. Populasi dan Sampel

1. Populasi terjangkau adalah penderita Disfungsi Kelenjar Meibom dengan gradasi 1, 2, 3 dengan usia ≥ 50 tahun yang datang berobat ke Instalasi Rawat Jalan SMF Mata RSUP Dr Kariadi Semarang

2. Sampel

a. Pemilihan sampel

- Sampel dipilih dari subjek yang memenuhi kriteria penelitian ini
- Sampel dikelompokkan menjadi kelompok yang mendapat vitamin A topikal dan doksisisiklin sistemik (subjek kontrol) dan kelompok yang mendapat vitamin A oral, vitamin A topikal dan doksisisiklin sistemik (subjek penelitian)

b. Cara Pengambilan sampel

Untuk memenuhi jumlah sampel yang telah ditentukan, maka kasus DKM diambil secara *consecutive sampling* pada Instalasi Rawat Jalan SMF Mata RSUP Dr Kariadi Semarang sampai didapat jumlah sampel yang ditentukan.

c, Besar sampel

Besar sampel pada penelitian ini didapatkan dari tabel Lemeshow, dimana *confidence level* 90 %, *anticipated population proportion* (P) 50 %, dan *relative precision* (ϵ) 30 % maka didapatkan jumlah sampel (n) sebanyak 30 kasus ³⁶.

III. 4. Kriteria Terpakai

1. Kriteria Inklusi :

- Penderita DKM gradasi 1,2,3 dengan usia ≥ 50 tahun, diambil satu mata dengan gradasi DKM yang lebih berat
- Tanpa kelainan lagofthalmos, trikhiasis, entropion, pasca trauma kimia, gangguan sistem lakrimalis ekskretori, akibat sindroma Steven Johnson dan sindroma Sjögren, serta produksi air mata yang berkurang akibat obat-obat yang telah dikenal dapat menyebabkan *dry eye*.
- Hasil laboratorium (Hb, lekosit, trombosit, hitung jenis, SGOT, SGPT, ureum, creatinin) dalam batas normal.
- Kesehatan secara umum baik dan mampu meneteskan dan minum obat sendiri.
- Bersedia mengikuti prosedur penelitian

2. Kriteria Eksklusi :

- Pada saat penelitian memakai obat-obatan yang dapat menyebabkan *dry eye*.
- Pada saat penelitian berlangsung timbul kelainan / penyakit lagofthalmos, trikhiasis, entropion, trauma kimia, gangguan sistem lakrimalis ekskretori, infeksi konjungtiva, infeksi kornea, infeksi sklera, reaksi radang hipersensitivitas, sindroma Steven Johnson dan sindroma Sjögren.
- Tidak kontrol sesuai jadwal yang telah ditentukan

III. 5. Bahan dan Alat

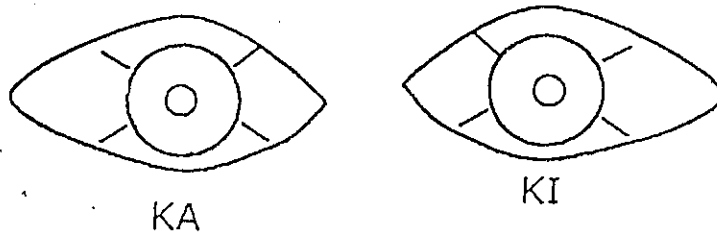
- Vitamin A tablet 6.000 IU (Kimia Farma)
- Vitamin A topikal, setiap ml mengandung water miscible 900 SI (Cendo
- Augentonic dalam bentuk minidose)
- Doksisisiklin kapsul 100 mg (Kimia Farma)
- Plasebo tablet
- Plasebo tetes dalam bentuk minidose
- Plasebo kapsul
- Larutan Rose Bengal 1 %
- Etanol 95 %
- Pantocain 0,5 %
- Millipore filter
- Kertas Whatman no 41 untuk test Schirmer
- Gelas objek
- *Glass rod*
- Optotip Snellen
- *Slit lamp*
- Penggaris
- *Timer*
- Mikroskop
- Tonometer Schiøtz
- Gunting
- *Eye speculum*
- Cawan petri
- Tabung reaksi
- Pinset tak bergigi
- Kartu status penelitian

III. 6. Cara Kerja

1. Pra Terapi

- Standardisasi pemeriksaan

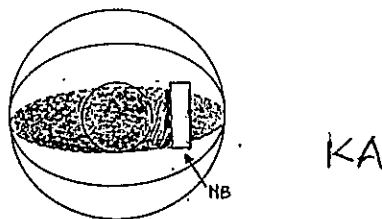
- Pemeriksaan gradasi DKM :
Penderita diminta melihat ke bawah dilihat muara kelenjar Meibom dan dari sebelah luar dilakukan penekanan terhadap tarsus superior. Diperhatikan apa yang keluar dari muara kelenjar Meibom
- Penderita menandatangani *informed consent*
- Dilakukan anamnesis lengkap dan pemeriksaan status oftalmologi (visus, segmen anterior, segmen posterior dan tonometri) sesuai format status penelitian pemeriksaan awal.
- Pemeriksaan laboratorium (Hb, lekosit, trombosit, hitung jenis, SGOT, SGPT, ureum, creatinin). Apabila hasil laboratorium normal dilanjutkan dengan pemeriksaan berikut ini.
- Pemeriksaan test Schirmer tanpa anestesi :
Dilakukan dengan cara meletakkan kertas Whatman no 41 yang telah dilipat ujungnya dengan bagian kecil yang dilipat pada forniks konjungtiva inferior 1/3 lateral selama 5 menit, mata dalam keadaan tetap tertutup. Diukur basahnya kertas mulai dari bagian yang dilipat.
- Pemeriksaan test fering :
Penderita melihat ke atas, air mata didapat dengan cara menyapukan *glass rod* pada forniks konjungtiva inferior dan diletakkan di atas gelas objek, dibiarkan mengering beberapa menit. Ditentukan gambaran corakan fering dengan diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 x.
- Pemeriksaan test rose bengal :
Mata ditetesi larutan rose bengal 1 %. Dalam keadaan mata tertutup, penderita diminta menggerakkan bola mata supaya Rose Bengal merata. Kemudian diperiksa kornea dan konjungtiva dengan menggunakan *slit lamp*. Dilihat pewarnaan pada 5 zona (konjungtiva nasal, temporal, superior, inferior, dan kornea) (Gambar 7). Kemudian disimpulkan derajat test rose bengal dengan menghitung penjumlahan score pewarnaan untuk 5 zona.



Gambar 7. Zona Penilaian test Rose Bengal

- Pemeriksaan sitologi impresi :

Mata penderita ditetes dengan pantocain 0,5 %, dan dibuka dengan bantuan *eye speculum*. Kertas filter selulose asetat (Millipore) dipotong dalam ukuran 5 x 10 mm, dengan bantuan forseps tidak bergigi kertas filter ditempatkan pada konjungtiva nasal dengan permukaan yang kasar menghadap konjungtiva. (Gambar 8). Kertas filter ditekan-tekan pada konjungtiva selama beberapa detik (± 15 detik) dengan *glass rod*. Filter diangkat dengan hati-hati dan diletakkan dalam tabung reaksi yang berisi etanol 95 %. Kemudian dilakukan pengecatan PAS dan ditentukan gradasinya di Laboratorium Patologi Anatomi.

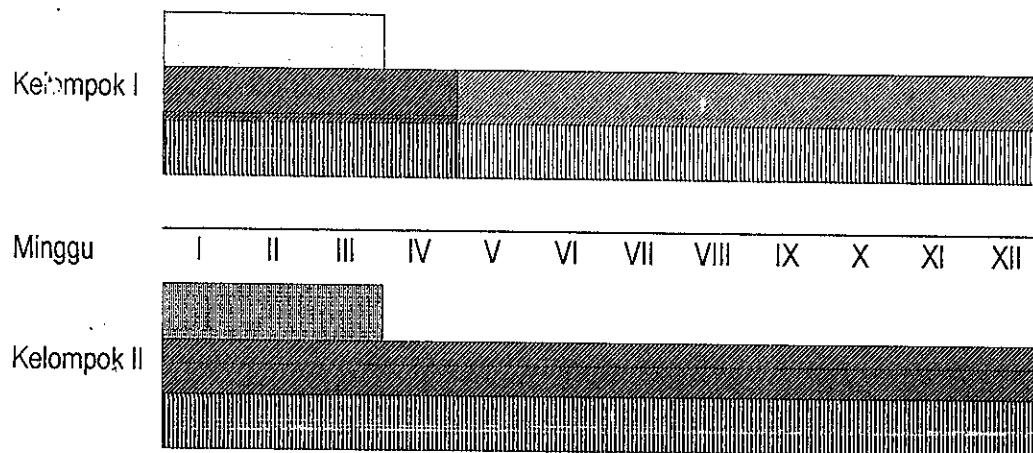


Gambar 8. Pemeriksaan Sitologi Impresi pada Konjungtiva Nasal



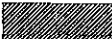



2. Terapi

- Pengelompokan sampel menjadi 2 kelompok dengan cara randomisasi blok dengan besar blok 6.
- Pemberian obat sesuai kelompok terapi (Gambar 9) :
 - Kelompok I : subjek yang mendapat vitamin A topikal 4 x 2 tetes sehari dan doksisisiklin oral 1 x 100 mg sehari selama 4 minggu (minggu I – IV) , placebo tablet 2 x 1 sehari selama 3 minggu (minggu I – III), placebo

- tetes 4 x 2 tetes sehari dan placebo kapsul 1 x 1 selama 8 minggu (minggu V – XII)
- Kelompok II : subjek yang mendapat vitamin A oral 2 x 6000 IU sehari selama 3 minggu, vitamin A topikal 4 x 2 tetes sehari, doksisisiklin oral 1 x 100 mg sehari selama 12 minggu (minggu I – XII)



Keterangan :

- | | |
|--|--|
|  : vitamin A tablet |  : plasebo tablet |
|  : vitamin A tetes |  : plasebo tetes |
|  : Doksisisiklin kapsul |  : plasebo kapsul |

Gambar 9. Bagan Pemberian Terapi

3. Pasca Terapi

- Dilakukan anamnesis dan pemeriksaan oftalmologi setiap 2 minggu (sesuai format status penelitian pemeriksaan lanjutan)
- Dilakukan pemeriksaan lengkap pada minggu IV, VIII, XII meliputi gradasi DKM, test Schirmer, test fering, test rose bengal
- Dilakukan pemeriksaan sitologi impresi pada minggu IV, XII

III. 7. Definisi Operasional

- DKM adalah : kelainan dimana kelenjar Meibom tidak mampu mengeluarkan lipid dengan kualitas dan kuantitas yang baik. Gradasi DKM ditentukan dengan pemeriksaan *slit lamp*
 - DKM gradasi 1 : meibum keruh keluar dengan penekanan ringan
 - DKM gradasi 2 : meibum keruh (opak) keluar dengan penekanan lebih keras
 - DKM gradasi 3 : meibum tidak dapat keluar meskipun dengan penekanan yang keras
- Test Schirmer : dilakukan dengan cara meletakkan kertas Whatman no 41 yang telah dilipat ujungnya pada forniks konjungtiva inferior 1/3 lateral selama 5 menit. Diukur kertas yang basah mulai dari bagian yang dilipat. Abnormal bila < 5 mm.
- Test ferning : Gambaran corakan musin yang tampak terdiri atas 4 tipe :
 - Tipe 1 : Gambaran daun pakis yang seragam tanpa ruang kosong diantaranya. Satu pakis besar dengan cabang-cabang yang rapat.
 - Tipe 2 : Gambaran daun pakis hampir sama dengan tipe 1, akan tetapi tiap kelompok pakis mempunyai cabang-cabang yang lebih pendek dan terdapat ruang kosong diantaranya.
 - Tipe 3 : Gambaran daun pakis hanya terlihat sebagian. Ukuran tiap kelompok pakis kecil dan mempunyai cabang yang jarang atau tidak lengkap. Tampak ruangan-ruangan besar yang kosong atau gumpalan musin yang tidak berbentuk.
 - Tipe 4 : Tidak tampak adanya bentuk daun pakis. Musin tampak sebagai gumpalan atau jaras benang. Keadaan ini disebabkan oleh adanya kontaminasi atau mukus yang telah degenerasi bercampur dengan sel-sel.

Gambaran tipe 1 dan 2 adalah keadaan musin yang berkualitas normal, dengan viskositas mukus yang rendah, sehingga mampu berdistribusi merata pada permukaan mata. Gambaran tipe 3 menunjukkan kemampuan musin yang rendah untuk mempertahankan fungsinya. Gambaran tipe 4 menunjukkan kerusakan struktur musin.

- Test rose bengal : cara menilai pemeriksaan rose bengal yaitu dengan melihat intensitas warna pada 5 zona (konjungtiva nasal, temporal, superior, inferior, dan

kornea). Kemudian disimpulkan derajat test rose bengal dengan menghitung penjumlahan skor pewarnaan untuk 5 zona, yaitu :

- 0 : tidak ada pewarnaan
- 1 : pewarnaan titik-titik
- 2 : pewarnaan berupa bercak-bercak tidak merata
- 3 : pewarnaan merata

Total nilai berkisar antara 0 - 15

- Sitologi impresi : . merupakan prosedur biopsi konjungtiva dengan menggunakan filter selulose asetat (Millipore) untuk mengetahui gambaran morfologi sel-sel epitel dan sel goblet pada konjungtiva. Derajat metaplasia konjungtiva :
 - Derajat 0 : sel epitel kecil, bulat dengan sitoplasma eosinofilik, rasio nukleus dibanding sitoplasma 1 : 2. Sel goblet banyak, lonjong dan berisi, pewarnaan PAS positif.
 - Derajat 1 : sel epitel agak membesar, poligonal dengan sitoplasma eosinofilik, nukleus kecil dengan rasio nukleus dibanding sitoplasma 1 : 3. Sel goblet berkurang, lonjong dan masih berisi, pewarnaan PAS positif.
 - Derajat 2 : sel epitel lebih besar, poligonal, multi nukleus, dengan sitoplasma bervariasi, dengan rasio nukleus dibanding sitoplasma 1 : 4 – 1 : 5. Sel goblet sangat berkurang, mengecil, pewarnaan PAS positif lemah dan batas kabur.
 - Derajat 3 : sel epitel besar, poligonal, dengan sitoplasma basofilik, nukleus kecil, piknotik kadang tidak ditemukan, dengan rasio nukleus dibanding sitoplasma 1 : 6. Tidak ada sel goblet.

Penilaian :

- Perbaikan derajat metaplasia apabila ada perbaikan satu tingkat derajat
- Perbaikan gradasi DKM apabila ada perbaikan satu tingkat gradasi
- Perbaikan test Schirmer apabila ada perbaikan ke tingkat angka normal yaitu > 5 mm atau perbaikan $\geq 20 \%$
- Perbaikan test ferning apabila ada perbaikan satu tingkat tipe
- Perbaikan test Rose Bengal apabila terjadi perbaikan satu tingkat score

Kriteria keberhasilan :

- Perbaikan yang signifikan sesuai perhitungan statistik

- Pada akhir pengobatan didapatkan perubahan minimal 2 variabel

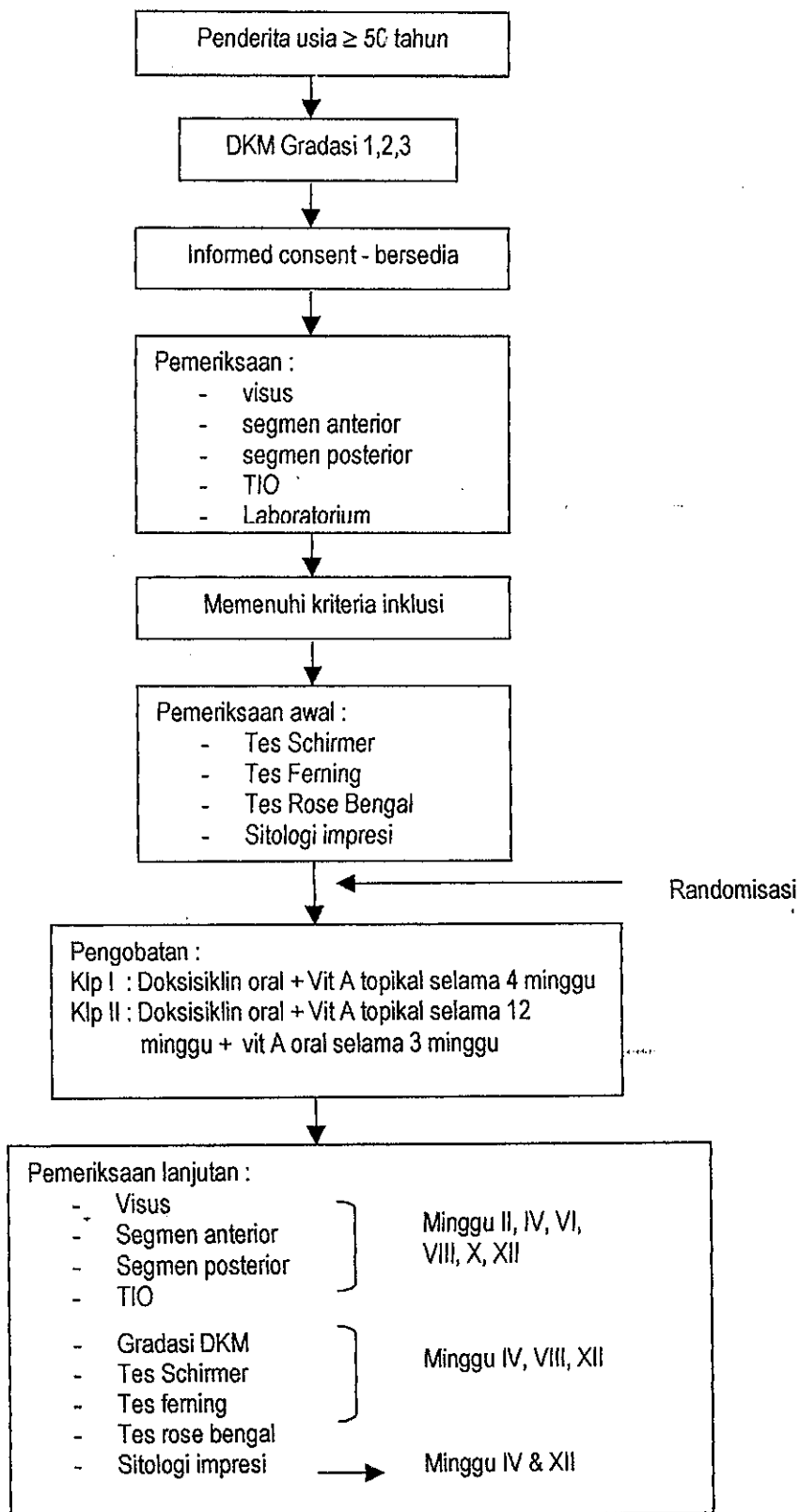
III. 8. Analisis Data

- Data-data yang sudah terkumpul dikelompokkan dan dianalisis sesuai parameter yang dinilai
- Dilakukan uji kesetaraan terhadap kedua kelompok dengan *Mann Whitney test*
- Analisis efek perbaikan metaplasia epitel konjungtiva dengan *Wilcoxon Sign Rank test*
- Analisis efek perbaikan skoring Rose Bengal dengan *Wilcoxon Sign Rank test*
- Analisis efek perbaikan gradasi DKM dengan *Wilcoxon Sign Rank test*
- Analisis efek perbaikan uji Ferning dengan *Wilcoxon Sign Rank test*
- Analisis efek perbaikan Schirmer dengan *Wilcoxon Sign Rank test*

III. 9. Jadwal Penelitian

Kegiatan	Jan	Feb	Mart	Apr	Mei	Jun	Jul	Ags	Sep	Okt	Nop	Des	Jan
1. Penyus + presentasi proposal penelitian													
2. Pengumpul data													
3. Analisis data + penyus laporan													
4. Presentasi laporan penelitian													

III.10. ALUR PENELITIAN



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan di Instalasi Rawat Jalan SMF Mata dan Laboratorium Patologi Anatomi RS Dr Kariadi Semarang selama 8 bulan dari tanggal 12 Februari 2002 sampai dengan tanggal 26 Oktober 2002. Selama kurun waktu tersebut telah diteliti 66 mata dari 66 sampel penderita DKM yang memenuhi kriteria inklusi, terdiri dari sampel kelompok I sebanyak 34 mata (52%) dan sampel kelompok II sebanyak 32 mata (48%). Sampel tersebut didapatkan dari keseluruhan 132 sampel penderita DKM gradasi 1-3 yang bersedia mengikuti penelitian, sebanyak 51 sampel dieksklusi karena hasil laboratorium yang tidak normal, 15 sampel dieksklusi selama penelitian karena menderita konjungtivitis (4 sampel), menderita Herpes Zoster Oftalmikus (1 sampel), alergi karena pemakaian obat (2 sampel), tidak kontrol (2 sampel) dan hasil sitologi impresi yang tidak dapat dievaluasi (6 sampel).

Subjek yang diteliti dibagi menjadi 2 kelompok secara randomisasi blok dengan besar blok 6 berdasarkan urutan kedatangan pasien. Sehingga diperoleh sampel kelompok I sebanyak 34 mata dan kelompok II sebanyak 32 mata.

Parameter yang dinilai pada penelitian ini adalah gradasi DKM, pewarnaan rose bengal, tipe Ferning, dan nilai Schirmer yang dilakukan pada awal penelitian (M_0), akhir minggu ke-4 (M_4), akhir minggu ke-8 (M_8), dan akhir minggu ke-12 (M_{12}). Serta penilaian gradasi metaplasia epitel konjungtiva dengan sitologi impresi yang dilakukan pada awal penelitian (M_0), akhir minggu ke-4 (M_4), dan akhir minggu ke-12 (M_{12}). Dilakukan analisis kesetaraan terhadap variabel di bawah ini.

IV.1. Distribusi Usia, Jenis Kelamin dan Karakteristik Penderita DKM pada Kedua Kelompok Penelitian Sebelum Perlakuan

Tabel 1. Distribusi Usia Pada Kedua Kelompok Perlakuan

Usia (tahun)	Kelompok I		Kelompok II	
	Frekuensi	%	Frekuensi	%
50 – 59	10	29,4	9	28,1
60 – 69	16	47,1	16	50,0
70 – 79	8	23,5	7	21,9
Total	34	100	32	100

P = 0,995

Pada tabel 1, terlihat usia penderita DKM kedua kelompok penelitian terbanyak pada kelompok usia 60 – 69 tahun, dengan distribusi 16 orang (47,1%) pada kelompok I dan 16 orang (50%) pada kelompok II. Pada kelompok I dengan kisaran usia 50 – 77 tahun dan kelompok II dengan kisaran usia 51 – 73 tahun. Rerata usia kelompok I $62,82 \pm 6,85$ tahun sedangkan kelompok II rerata usianya $62,81 \pm 6,84$ tahun. Terlihat bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan diantara kedua kelompok dengan $p = 0,995$.

Banyaknya penderita DKM pada kelompok usia 60 – 69 tahun karena faktor usia memang memegang peranan penting terjadinya *dry eye*. Disebutkan bahwa 75 % usia > 65 tahun akan mengalami *dry eye syndrome*. Dan menurut beberapa laporan, DKM merupakan penyebab terbanyak *dry eye*⁴.

Tabel 2. Distribusi Jenis Kelamin Pada Kedua Kelompok Penelitian

Jenis Kelamin	Kelompok I		Kelompok II	
	Frekuensi	%	Frekuensi	%
Laki-laki	2	5,9	2	6,3
Wanita	32	94,1	30	93,8
Total	34	100	32	100

P = 0,950

Tabel 2 menunjukkan distribusi jenis kelamin penderita DKM kedua kelompok penelitian tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan $p = 0,950$. Dari seluruh sampel penelitian didapatkan 62 orang (93,9%) wanita dan 4 orang (6,1%) laki-laki. Baik dari kelompok I maupun kelompok II didapatkan sebagian besar penderita DKM

yang menjadi sampel adalah wanita. Pada kelompok I didapatkan 32 orang (94,1%), sedangkan pada kelompok II didapatkan 30 orang (93,8%).

Banyaknya jenis kelamin wanita pada penelitian ini sesuai dengan pernyataan beberapa peneliti sebelumnya bahwa DKM lebih banyak ditemukan pada wanita tua. Mathers dkk tahun 1996 dalam penelitiannya melaporkan kejadian DKM pada wanita lebih dari 70%⁹. Dalam penelitiannya, Girsang mendapatkan 80% wanita⁵, Simanjuntak mendapatkan 75% wanita¹⁸, dan Zulhidya mendapatkan 70% wanita¹¹. Beberapa peneliti menduga adanya peran hormon pada keadaan ini. Mathers membandingkan pengaruh hormon testosteron pada wanita menopause dan wanita pre menopause. Pada wanita menopause ditemukan adanya korelasi positif antara kadar testosteron dengan fungsi air mata. Sullivan dkk melaporkan bahwa fungsi kelenjar diatur antara lain oleh androgen dalam meningkatkan kualitas dan kuantitas lipid yang dihasilkan. Rocha dkk membuktikan adanya reseptor androgen pada kelenjar Meibom, dimana jumlah androgen yang berkurang akan mengganggu fungsi kelenjar Meibom⁹.

Tabel 3 menunjukkan karakteristik penderita DKM pada kedua kelompok penelitian sebelum pemberian perlakuan yang memperlihatkan hasil yang setara (tidak ada perbedaan yang signifikan, $p > 0,05$) pada gradasi DKM, sitologi impresi, rose bengal, Ferning, dan Schirmer.

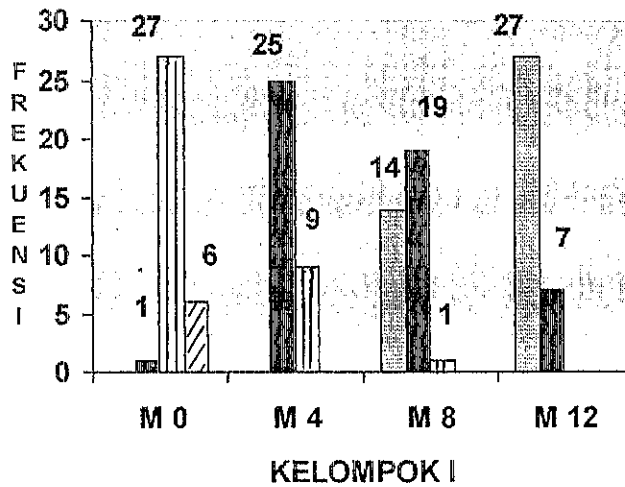
Tabel 3. Karakteristik penderita DKM pada kedua kelompok penelitian sebelum perlakuan pada 66 mata

Variabel	Kelompok I		Kelompok II		p
	Frek	%	Frek	%	
Gradasi DKM					0,359
Gradasi 1	1	2,9	4	12,5	
Gradasi 2	27	79,4	23	71,9	
Gradasi 3	6	17,6	5	15,6	
Total	34	100	32	100	
Modus	2		2		
Sitologi Impresi					0,117
Derajat 1	10	29,4	7	21,9	
Derajat 2	20	58,8	15	46,9	
Derajat 3	4	11,8	10	31,2	
Total	34	100	32	100	

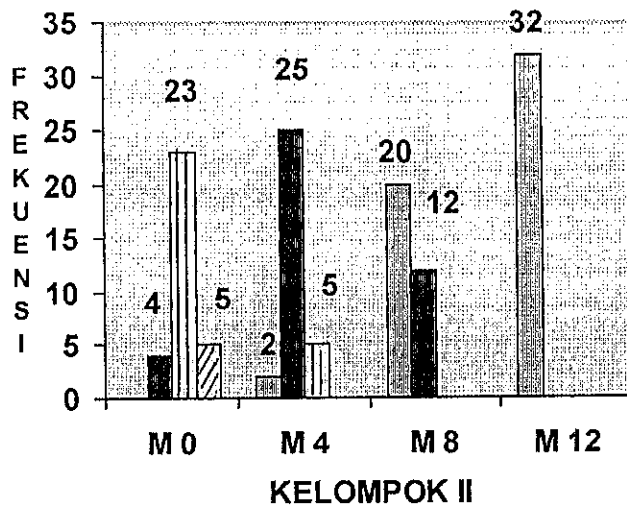
Modus	2		2		
Rose Bengal					0,869
Skor 3	7	20,6	8	25,0	
4	11	32,4	9	28,1	
5	7	20,6	5	15,6	
6	9	26,5	7	21,9	
7	-	-	2	6,3	
8	-	-	1	3,1	
Total	34	100	32	100	
Modus	4		4		
Ferning					0,224
Tipe 1	1	2,9	4	12,5	
Tipe 2	13	38,3	13	40,6	
Tipe 3	17	50,0	13	40,6	
Tipe 4	3	8,8	2	6,3	
Total	34	100	32	100	
Modus	3		3		
Schirmer					0,173
< 5 mm	10	29,4	18	56,3	
5 mm – 10 mm	15	44,1	10	31,2	
> 10 mm	9	26,5	4	12,5	
Total	34	100	32	100	
Rerata	7,85 ± 4,77		6,16 ± 5,24		

IV. 2. Hasil Pemeriksaan Penderita DKM Pada Kedua Kelompok Penelitian Setelah Perlakuan

IV. 2.1. DISFUNGSI KELENJAR MEIBOM (DKM)



p DKM pd kel I :
 $M_{0-4} p < 0,0001$
 $M_{0-8} p < 0,0001$
 $M_{0-12} p < 0,0001$



p DKM pada kel II :
 $M_{0-4} p < 0,0001$
 $M_{0-8} p < 0,0001$
 $M_{0-12} p < 0,0001$

p DKM diantara kedua kelompok :
 $M_0 p = 0,359$
 $M_4 p = 0,148$
 $M_8 p = 0,073$
 $M_{12} p = 0,007$

Gambar 10. Perbandingan Gradasi DKM pada Kedua Kelompok Penelitian

Gambar 10 menunjukkan sebagian besar sampel pada awal penelitian ini, baik dari kelompok I maupun kelompok II menderita DKM derajat 2 dimana dari pemeriksaan didapatkan meibum keruh (opak), keluar dengan penekanan lebih keras. Pada kelompok I didapatkan DKM derajat 2 pada 27 mata (79,4 %) dan pada kelompok II didapatkan pada 23 mata (71,9%). Diikuti oleh DKM derajat 3 pada 6 mata (17,6%) sampel kelompok I dan pada 5 mata (15,6%) sampel kelompok II.

Dari gambar 10 terlihat baik kelompok I maupun kelompok II menunjukkan perbaikan gradasi DKM yang bermakna pada minggu ke-4 sampai dengan minggu ke-12 ($p_{M_{0-4}} < 0,0001$; $p_{M_{0-8}} < 0,0001$; $p_{M_{0-12}} < 0,0001$).

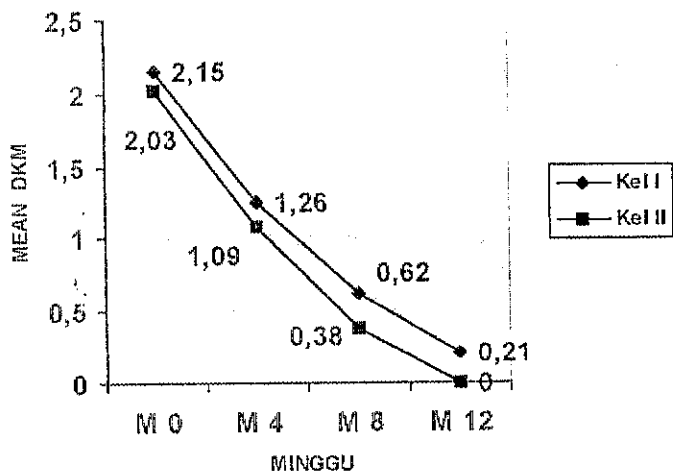
Pada minggu ke-4 tampak perbaikan gradasi DKM kedua kelompok dimana sebagian besar sampel menunjukkan DKM gradasi 1. Pada kelompok I dijumpai sebanyak 25 mata (73,5%), sedangkan pada kelompok II dijumpai pada 25 mata (78,1%). Selain DKM gradasi 1 dijumpai pula gradasi 2 pada 9 mata (26,5%) sampel kelompok I dan pada 5 mata (15,6%) sampel kelompok II. Pada kedua kelompok ini sudah tidak dijumpai lagi DKM gradasi 3. Khusus pada kelompok II, dijumpai 2 mata (6,3%) dengan DKM gradasi 0. Tampak bahwa kelompok II menunjukkan perbaikan yang lebih baik dibanding kelompok I, meskipun secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan diantara kedua kelompok, $p = 0,148$.

Pada minggu ke-8 sebagian besar sampel ke-2 kelompok menunjukkan perbaikan gradasi DKM. Tetapi perbaikan lebih nyata pada kelompok II, dimana 20 mata (62,5%) menunjukkan DKM gradasi 0, dan 12 mata (37,5%) DKM gradasi 1. Sedangkan pada kelompok I 14 mata (41,2%) menunjukkan DKM gradasi 0, 19 mata (55,9%) DKM gradasi 1, dan 1 mata (2,9%) DKM gradasi 2. Namun demikian tidak terdapat perbedaan yang signifikan diantara kedua kelompok dengan $p = 0,073$.

Pada akhir pengamatan (minggu ke-12) masih tampak perbaikan gradasi DKM pada kedua kelompok. Dimana kelompok II menunjukkan perbaikan gradasi DKM yang lebih baik dibanding kelompok I, dengan perbedaan yang signifikan secara statistik, $p = 0,007$. Pada minggu ke-12, DKM gradasi 0 dijumpai pada 79,4 % sampel kelompok I dan 100 % sampel kelompok II.

Perubahan gradasi DKM kedua kelompok dapat juga dilihat pada gambar 11, dimana tampak perubahan mean gradasi DKM. Pada kelompok I terlihat mean gradasi

DKM 2,15 pada awal penelitian berubah menjadi 1,26 pada minggu ke-4, 0,6 pada minggu ke-8 dan 0,21 pada minggu ke 12. Sedangkan pada kelompok II terlihat mean gradasi DKM 2,03 pada awal penelitian berubah menjadi 1,09 pada minggu ke-4, 0,38 pada minggu ke-8 dan 0 pada minggu ke 12.



Gambar 11. Perubahan Gradasi DKM pada Kedua Kelompok Penelitian

Penyembuhan / perbaikan gradasi DKM sebagai hasil terapi doksisisiklin yang mengurangi aktifitas lipase dari bakteri, sehingga menyebabkan berkurangnya asam lemak bebas (FFA) ³³. FFA ini merupakan komponen yang sangat penting yang mempengaruhi kelarutan lipid lainnya pada lapisan air mata (menimbulkan perbedaan titik cair) dan menyebabkan perubahan karakteristik lapisan air mata ^{4,22}. Pemberian vitamin A pada penderita DKM akan memulihkan kembali keratinisasi epitel, baik pada orifisium maupun duktus kelenjar Meibom, sehingga tidak terjadi sumbatan sekresi meibum ^{13,16}.

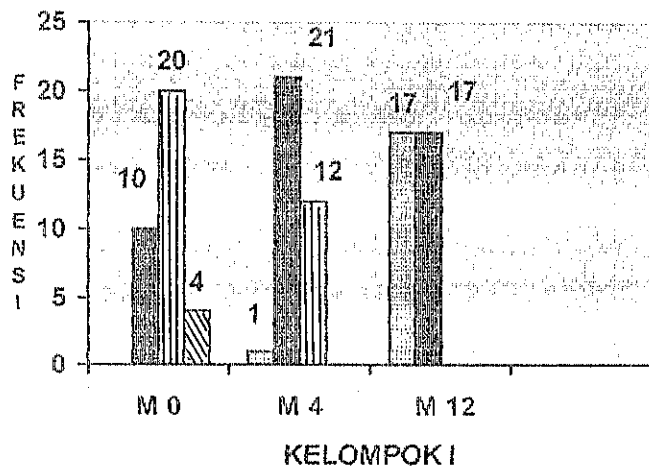
Dalam penelitiannya, Girsang menyatakan pemberian doksisisiklin sistemik saja selama 2 minggu tidak memperlihatkan perbaikan gradasi DKM ⁵, sedangkan Simanjuntak dengan penambahan vitamin A sistemik menunjukkan perbaikan gradasi DKM pada minggu ke-4 ¹⁸. Demikian juga dengan penelitian Zuhdiya yang menunjukkan dengan pemberian doksisisiklin sistemik dan vitamin A topical menunjukkan perbaikan gradasi DKM pada minggu ke-4 ¹¹. Dari penelitian ini terlihat

bahwa pemberian doksisisiklin sistemik dan vitamin A topikal selama 4 minggu memperlihatkan perbaikan gradasi DKM pada minggu ke-4 dan efek perbaikan ini masih terus berlangsung sampai dengan minggu ke-12. Tetapi dengan penambahan vitamin A sistemik dan pemberian doksisisiklin sistemik serta vitamin A topikal yang terus menerus sampai dengan minggu ke-12 memberikan efek potensiasi sehingga menunjukkan hasil yang lebih baik pada minggu ke-12 (dengan perbedaan yang bermakna, $p=0,007$).

IV.2.2. METAPLASIA EPITEL KONJUNGTTIVA

Integritas permukaan konjungtiva sangat ditentukan oleh karakter epitel dan produksi musin dari sel goblet. Kondisi patologis konjungtiva akan menimbulkan perubahan histologi dan fisiologi konjungtiva yang disebut dengan metaplasia skuamosa akibat dari diferensiasi epitel konjungtiva yang abnormal. Pada metaplasia konjungtiva terjadi perubahan fungsi dari bagian sekretori dan non sekretori menjadi non sekretori semua, bertambahnya stratifikasi epitel dan transisi lapisan epitel yang semula non keratin menjadi berkeratin. Gambaran morfologi epitel konjungtiva dan sel goblet dapat diperiksa dengan sitologi impresi^{2,10,14,31,32}. Metaplasia epitel menyebabkan mikrovili sel epitel permukaan konjungtiva rusak sehingga musin tidak terikat, yang akan memberikan pola pewarnaan pada pengecatan rose bengal.

IV.2.2.1. Sitologi Impresi



p sitologi pd kel I :

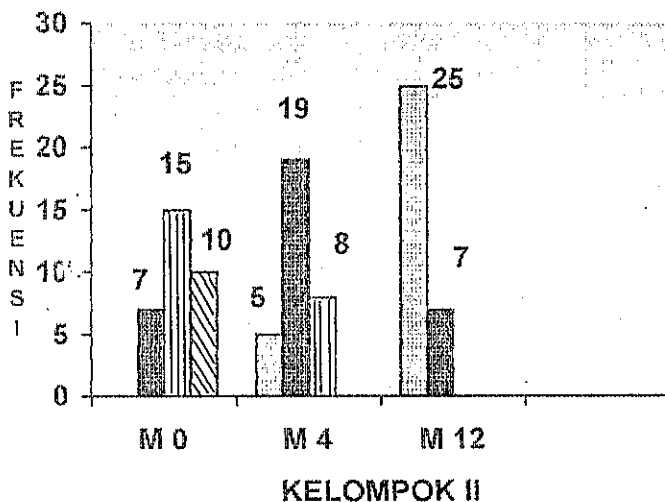
$M_{0-4} p < 0,0001$

$M_{0-12} p < 0,0001$

p sitologi pd kel II :

$M_{0-4} p < 0,0001$

$M_{0-12} p < 0,0001$



p sitologi diantara kedua kelompok :

$M_0 p = 0,117$

$M_4 p = 0,142$

$M_{12} p = 0,018$

Gambar 12. Perbandingan Derajat Metaplasia Epitel Konjungtiva dengan pemeriksaan sitologi impresi pada Kedua Kelompok Penelitian

Dari gambar 12 terlihat bahwa baik dari kelompok I maupun kelompok II telah mengalami metaplasia epitel konjungtiva derajat 2. Gambaran metaplasia epitel konjungtiva ini dengan pengecatan PAS dan hematoksilin terlihat sebagai sel epitel yang lebih besar, polygonal, sitoplasma bervariasi dengan rasio nukleus dibanding sitoplasma 1:4 - 1:5 ; sel goblet sangat berkurang dengan pewarnaan PAS positif lemah

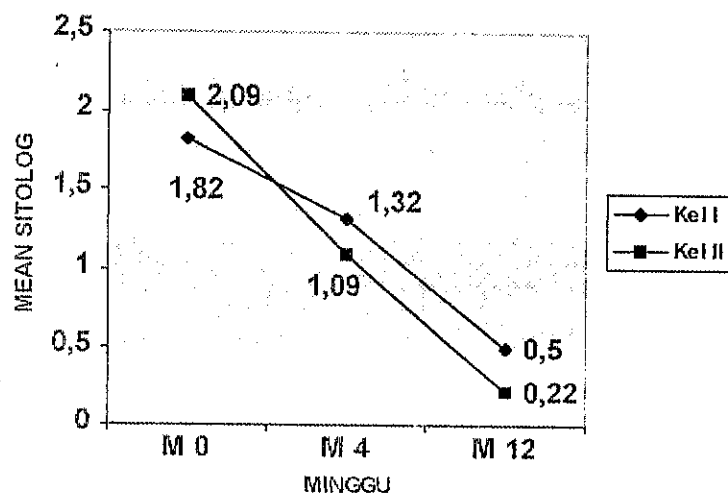
dan batas kabur¹⁴. Pada kelompok I didapatkan metaplasia epitel konjungtiva derajat 2 pada 20 mata (58,8%) dan pada kelompok II didapatkan pada 15 mata (46,9%). Diikuti oleh derajat 3 pada 4 mata (11,8%) sampel kelompok I dan pada 10 mata (31,2%) sampel kelompok II. Dijumpai pula metaplasia derajat 1 pada 10 mata (29,4%) sampel kelompok I dan pada 7 mata (21,9%) sampel kelompok II.

Membaiknya gradasi DKM ternyata diikuti pula dengan membaiknya kerusakan epitel permukaan mata. Dari gambar 12 terlihat perbaikan epitel konjungtiva yang bermakna pada kedua kelompok dari minggu ke-4 sampai dengan minggu ke-12 ($p_{M_0-4} < 0,0001$; $p_{M_4-12} < 0,0001$).

Pada minggu ke-4 tampak perbaikan derajat metaplasia konjungtiva kedua kelompok, dimana sebagian besar sampel menunjukkan metaplasia konjungtiva derajat 1. Pada kelompok I dijumpai sebanyak 21 mata (61,8%), sedangkan pada kelompok II dijumpai pada 19 mata (59,4 %). Selain metaplasia konjungtiva derajat 1 dijumpai pula derajat 2 pada 12 mata (35,3%) sampel kelompok I dan pada 8 mata (25%) sampel kelompok II. Pada kedua kelompok ini sudah tidak dijumpai lagi metaplasia derajat 3. Pada kelompok II dijumpai 5 mata (5,6%) tanpa metaplasia (derajat 0) dan 1 mata (2,9%) dari kelompok I. Tampaknya kelompok II menunjukkan perbaikan yang lebih baik dibanding kelompok I, meskipun secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan diantara kedua kelompok, $p = 0,142$.

Pada akhir pengamatan (minggu ke-12) masih tampak perbaikan derajat metaplasia konjungtiva pada kedua kelompok. Dimana kelompok II menunjukkan perbaikan derajat metaplasia yang lebih baik dibanding kelompok I, dengan perbedaan yang signifikan secara statistik, $p = 0,018$. Pada minggu ke-12, derajat 0 (tidak dijumpai metaplasia) didapati pada 50 % sampel kelompok I dan 78,1 % sampel kelompok II.

Perubahan derajat metaplasia konjungtiva kedua kelompok dapat juga dilihat pada gambar 13, dimana tampak perubahan mean derajat metaplasia konjungtiva. Pada kelompok I terlihat mean derajat metaplasia konjungtiva 1,82 pada awal penelitian berubah menjadi 1,32 pada minggu ke-4, dan 0,5 pada minggu ke 12. Sedangkan pada kelompok II terlihat mean derajat metaplasia konjungtiva 2,09 pada awal penelitian berubah menjadi 1,09 pada minggu ke-4, dan 0,22 pada minggu ke 12.



Gambar 13. Perubahan Derajat Metaplasia Epitel Konjungtiva dengan pemeriksaan sitologi impresi pada Kedua Kelompok Penelitian



Gambar 1. Sitologi impresi grade 0. Terlihat sel-sel epitelial kecil berinti besar dengan rasio nukleositoplasmik 1:2. Sel goblet (panah) banyak ditemukan, berbentuk oval, dengan sitoplasma terpusas PAS positif kuat (pulasan PAS, Perbesaran asli X100).



Gambar 2. Sitologi impresi grade 1. Terlihat sel-sel epitelial lebih poligonal dan sedikit lebih besar. Inti lebih kecil, dengan rasio nukleositoplasmik 1:3. Sel-sel goblet berkurang jumlahnya, sitoplasma masih terpusat positif kuat (pulasan PAS, perbesaran asli X200).



Gambar 3. Sitologi impresi grade 2. Sel-sel epitelial lebih besar daripada sel-sel grade 1. Nukleus lebih kecil, dengan rasio nukleositoplasmik 1:4 sampai 1:5. Sel-sel goblet berkurang banyal jumlahnya dan lebih kecil, terpusat PAS positif kurang kuat (pulasan PAS, perbesaran asli X200).



Gambar 4. Sitologi impresi grade 3. Sel-sel epitelial lebih besar dan poligonal. Nukleus kecil, lebih piknotik. Rasio nukleositoplasmik lebih dari 1:6. Sel-sel goblet sama sekali sudah tidak dijumpai (pulasan PAS, perbesaran asli X100).

Gambar 14. Gambar sitologi impresi dengan pengecatan PAS

IV.2.2.2. Rose Bengal

Tabel 4. Perbandingan hasil rose bengal kedua kelompok penelitian

Skor rose bengal	Kelompok I				Kelompok II			
	Awal Frek (%)	Mgg IV Frek (%)	Mgg VIII Frek (%)	Mgg XII Frek (%)	Awal Frek (%)	Mgg IV Frek (%)	Mgg VIII Frek (%)	Mgg XII Frek (%)
0	-	-	-	-	-	-	-	3 (9,4)
1	-	-	4 (11,8)	13 (38,3)	-	1 (3,1)	11 (34,4)	20 (62,5)
2	-	15 (44,1)	23 (67,6)	19 (55,8)	-	10 (31,2)	14 (43,7)	9 (28,1)
3	7 (20,6)	13 (38,3)	5 (14,7)	2 (5,9)	8 (25)	17 (53,1)	7 (21,9)	-
4	11 (32,4)	5 (14,7)	2 (5,9)	-	9 (28,1)	2 (6,3)	-	-
5	7 (20,6)	1 (2,9)	-	-	5 (15,6)	2 (6,3)	-	-
6	9 (26,4)	-	-	-	7 (21,9)	-	-	-
7	-	-	-	-	2 (6,3)	-	-	-
8	-	-	-	-	1 (3,1)	-	-	-
Total	34 (100)	34 (100)	34 (100)	34 (100)	32 (100)	32 (100)	32 (100)	32 (100)

p rose bengal kelompok I :

$M_{0-4} p < 0,0001$

$M_{0-8} p < 0,0001$

$M_{0-12} p < 0,0001$

p rose bengal kelompok II :

$M_{0-4} p < 0,0001$

$M_{0-8} p < 0,0001$

$M_{0-12} p < 0,0001$

p rose bengal diantara kedua kelompok :

$M_0 p = 0,869$

$M_4 p = 0,733$

$M_8 p = 0,159$

$M_{12} p = 0,002$

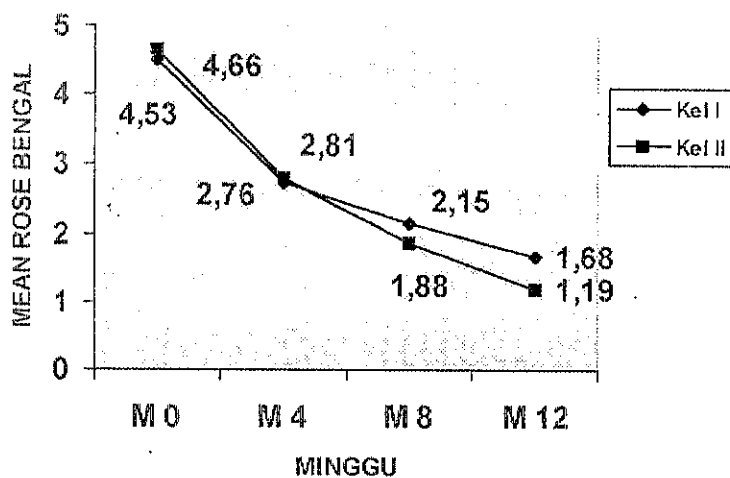
Dari tabel 4 terlihat sebagian besar penderita DKM derajat 2 ini, baik dari kelompok I maupun kelompok II, pada awal penelitian didapatkan pewarnaan rose bengal dengan skor 4 yang pada umumnya menunjukkan adanya pewarnaan berupa bercak atau titik-titik pada kuadran nasal, inferior atau temporal.

Membaiknya gradasi DKM yang diikuti dengan membaiknya kerusakan epitel permukaan mata dapat dilihat dengan pewarnaan rose bengal yang menunjukkan perubahan hasil pewarnaan yang dapat dilihat pada tabel 4. Dari tabel 4 terlihat perubahan hasil pewarnaan rose bengal kedua kelompok, dimana baik kelompok I maupun kelompok II memperlihatkan perubahan hasil pewarnaan rose bengal yang bermakna pada minggu ke-4 sampai dengan minggu ke-12 ($p_{M0-4} < 0,0001$; $p_{M0-8} < 0,0001$; $p_{M0-12} < 0,0001$).

Pada minggu ke-4 tampak perubahan pewarnaan rose bengal pada kedua kelompok dimana sebagian besar sampel kelompok I dijumpai menunjukkan skor pewarnaan 2 pada 15 mata (44,1%) dan skor 3 pada 13 mata (38,3%). Sedangkan pada kelompok II sebagian besar menunjukkan skor pewarnaan 3 pada 17 mata (53,1%) dan skor 2 pada 10 mata (31,2). Pada kedua kelompok ini sudah tidak dijumpai lagi skor rose bengal yang lebih dari 5. Khusus pada kelompok II, dijumpai 1 mata (3,1%) dengan skor pewarnaan rose bengal 1. Pada minggu ke-4 ini tidak terlihat perbedaan perbaikan skor pewarnaan rose bengal yang signifikan diantara kedua kelompok, $p = 0,733$.

Pada minggu ke-8 sebagian besar sampel ke-2 kelompok menunjukkan perbaikan pewarnaan rose bengal. Tetapi perbaikan tampaknya lebih nyata pada kelompok II, dimana 11 mata (34,4%) menunjukkan skor 1, dan 14 mata (43,7%) menunjukkan skor 2. Sedangkan pada kelompok I, 4 mata (11,8%) menunjukkan skor 1 dan 23 mata (67,6%) dengan skor 2. Namun demikian tidak terdapat perbedaan yang signifikan diantara kedua kelompok dengan $p = 0,159$.

Pada akhir pengamatan (minggu ke-12) masih tampak perbaikan pewarnaan rose bengal pada kedua kelompok. Perubahan pewarnaan rose bengal ini mencerminkan perbaikan epitel permukaan mata. Pada minggu ke-12 tampak perbedaan yang signifikan diantara kedua kelompok dengan $p = 0,002$; dimana kelompok II menunjukkan perbaikan epitel permukaan mata yang lebih baik dibanding kelompok I. Pada kelompok II memperlihatkan 20 mata (62,5%) dengan skor rose bengal 1 dan 3 mata (9,4%) tidak dijumpai pewarnaan. Sedangkan pada kelompok I 19 mata (55,8 %) dengan skor rose bengal 2 dan 13 mata (38,3%) dengan skor 1.



Gambar 15. Perubahan hasil rose bengal pada kedua kelompok penelitian

Perubahan pewarnaan rose bengal kedua kelompok dapat juga dilihat pada gambar 15, dimana tampak perubahan mean skor rose bengal. Pada kelompok I terlihat mean rose bengal 4,53 pada awal penelitian berubah menjadi 2,76 pada minggu ke-4, 2,15 pada minggu ke-8 dan 1,68 pada minggu ke 12. Sedangkan pada kelompok II terlihat mean rose bengal 4,66 pada awal penelitian berubah menjadi 2,81 pada minggu ke-4, 1,88 pada minggu ke-8 dan 1,19 pada minggu ke 12.

Disini terlihat bahwa pada awal penelitian, sebagian besar DKM derajat 2 telah terjadi pula kerusakan epitel konjungtiva, berupa gambaran metaplasia skuamosa dengan keratinisasi epitel dan berkurangnya sel goblet. Dengan terjadinya metaplasia skuamosa epitel permukaan mata ini, mikrovili sel epitel akan mengalami kerusakan sehingga lapisan musin tidak dapat berikatan dengan epitel permukaan mata. Epitel yang berdegenerasi ini dengan rose bengal akan terwarnai ^{2,12,21,24}. Pada penelitian ini sebagian besar memperlihatkan pewarnaan berupa bercak atau titik-titik pada daerah yang terpapar maupun yang tidak terpapar (kuadran nasal, inferior, atau temporal). Hal ini sesuai dengan pernyataan Lee dkk dan Tseng dkk bahwa luasnya kerusakan epitel permukaan mata pada DKM selaras dengan intensitas pewarnaan rose bengal dan tidak hanya pada daerah yang terpapar tetapi juga pada daerah yang tidak terpapar ²³.

Penyebab kerusakan konjungtiva pada DKM belum diketahui dengan pasti, diduga elemen patogenik inflamasi yang terdapat pada dan di sekitar muara kelenjar

Meibom tersebar sampai ke konjungtiva dan selanjutnya menyebabkan perubahan epitel permukaan konjungtiva²³. Teori lain mengemukakan bahwa perubahan komposisi lemak mengakibatkan peningkatan evaporasi dan osmolaritas LAM yang secara langsung ataupun tidak langsung mengakibatkan gangguan permukaan mata^{6,22}.

Perbaikan kerusakan epitel permukaan mata sebagai hasil terapi vitamin A. Vitamin A mempermudah diferensiasi epitel permukaan mata dan pembentukan mikrovili serta glikokaliks. Keadaan ini akan menyebabkan perbaikan ekspresi *mucin like glycoprotein* yang selanjutnya menormalkan epitel permukaan mata^{16,17}. Pemberian vitamin A secara sistemik dalam waktu 2-4 minggu telah terbukti memperbaiki metaplasia skuamosa konjungtiva penderita-penderita dengan sindroma Sjogren, pemfigoid sikatrisial dan xeroftalmia. Efek ini dihasilkan melalui ikatan vitamin A dengan reseptor spesifiknya (*Retinol Binding Protein*). Pelepasan retinal ini melalui ikatan RBP akan masuk ke darah untuk dapat mencapai kapiler-kapiler yang akhirnya sampai di pembuluh darah di mata dan masuk ke kelenjar lakrimalis¹¹. Pemakaian vitamin A topikal untuk pengobatan pada penyakit-penyakit mata sudah banyak dilaporkan. Tseng dkk mencoba memberikan vitamin A (tretinoin) topikal dengan dosis tiga kali sehari selama 2-4 minggu untuk memulihkan kembali epitelium permukaan mata yang telah mengalami keratinisasi sehingga terjadi penurunan metaplasia sel konjungtiva¹⁶. Maumenee melaporkan pemberian vitamin A topikal (palmitat) pada kasus metaplasia epitel akibat hipovitaminosis A yang memperlihatkan perbaikan dalam beberapa hari sampai 2 minggu¹⁷. Zulhidya melaporkan perbaikan epitel permukaan mata pada penderita DKM telah terlihat sejak minggu pertama¹¹.

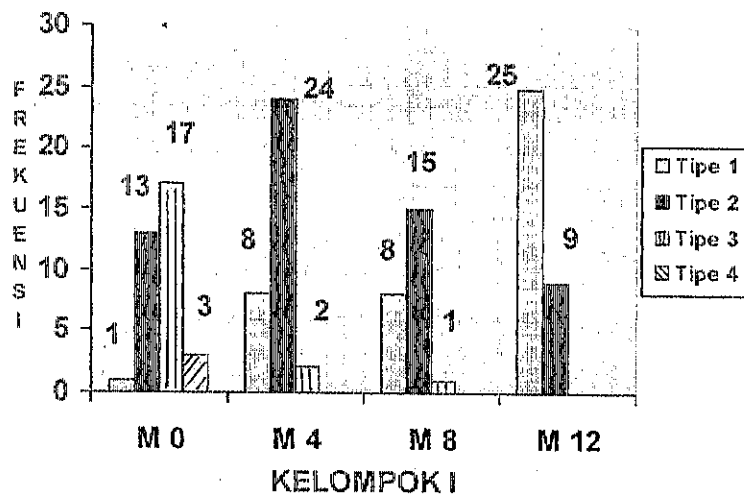
Pada penderita DKM tidak terjadi perubahan konsentrasi vitamin A yang dikeluarkan melalui kelenjar lakrimal. Untuk memperbaiki metaplasia skuamosa epitel permukaan mata dibutuhkan vitamin A tambahan. Hal ini disebabkan karena konsentrasi vitamin A dalam air mata tidak cukup untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi^{9,11}.

Pemberian doksisisiklin akan memperbaiki komposisi lipid sehingga menjaga *tear wet ability*, dengan cara mencegah evaporasi akuos yang berlebihan dan menjaga stabilitas lapisan air mata, sehingga pada akhirnya menjaga kesehatan epitel permukaan mata. Berkurangnya evaporasi mengakibatkan penurunan tegangan

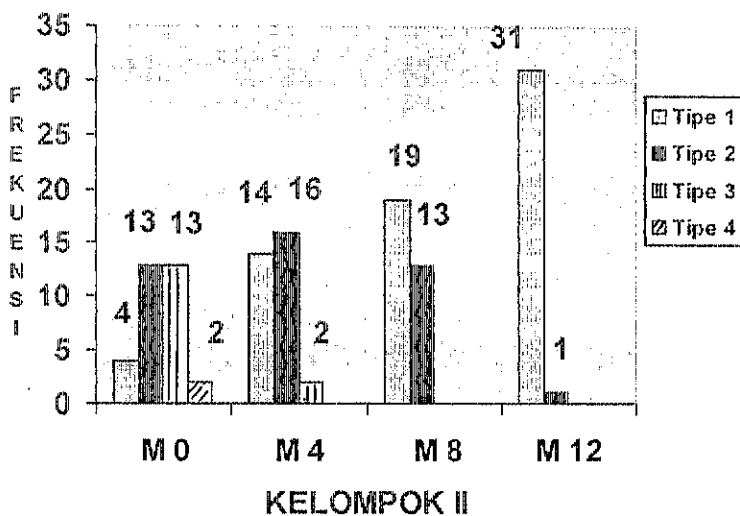
interfasial antara air mata dan membran sel epitel sehingga tidak terjadi kerusakan mikrovili epitel permukaan mata ²². Myranti melaporkan perbaikan epitel oleh doksisisiklin sistemik pada minggu ke-3 ¹¹. Sedangkan Girsang tidak dapat memperlihatkan perbaikan epitel permukaan mata ⁵. Penelitian Simanjuntak, menunjukkan perbaikan pada minggu ke-4 dengan penambahan vitamin A sistemik ¹⁸, sedangkan Zulhidya melaporkan perbaikan epitel pada minggu ke-4 dengan doksisisiklin saja, tetapi dengan penambahan vitamin A topikal telah terjadi perbaikan sejak minggu pertama ¹¹. Sehingga doksisisiklin memberi efek tidak langsung pada perbaikan epitel permukaan mata.

Pada penelitian ini terlihat bahwa pemberian doksisisiklin sistemik dan vitamin A topikal selama 4 minggu memperlihatkan perbaikan epitel permukaan mata pada minggu ke-4 dan efek perbaikan ini masih terus berlangsung sampai dengan minggu ke-12. Tetapi dengan penambahan vitamin A sistemik dan pemberian doksisisiklin sistemik serta vitamin A topikal yang terus menerus sampai dengan minggu ke-12 memberikan efek potensiasi sehingga menunjukkan hasil yang lebih baik pada minggu ke-12.

IV.2.3. KUALITAS MUSIN



p Ferning kel I :
 $M_{0-4} p < 0,0001$
 $M_{0-8} p < 0,0001$
 $M_{0-12} p < 0,0001$



p Ferning pada kel II :
 $M_{0-4} p < 0,0001$
 $M_{0-8} p < 0,0001$
 $M_{0-12} p < 0,0001$

p Ferning diantara kedua kelompok :
 $M_0 p = 0,224$
 $M_4 p = 0,128$
 $M_8 p = 0,538$
 $M_{12} p = 0,009$

Gambar 16. Perbandingan tipe Ferning pada kedua kelompok penelitian

Dari gambar 16 terlihat sebagian besar penderita DKM ini, baik dari kelompok I maupun kelompok II, menunjukkan tipe Ferning derajat 3. Gambaran Ferning derajat 3 menunjukkan kemampuan musin yang rendah untuk mempertahankan fungsinya. Pada penderita dry eye 91,7% menunjukkan gambaran tipe 3 dan 4. Tipe 3 ini merupakan kelompok transisi, karena bisa dijumpai pada 15,5% mata normal²². Frekuensi kedua terbanyak pada kelompok I maupun II adalah tipe ferning derajat 2 yang menggambarkan keadaan musin yang berkualitas normal, dengan viskositas

mukus yang rendah, sehingga mampu berdistribusi merata pada permukaan mata. Pada populasi normal air mata menunjukkan 82,7 % bentuk tipe 1 dan 2²².

Keratinisasi epitel permukaan mata akan menyebabkan berkurang atau hilangnya sel goblet sehingga berpengaruh pada kualitas musin yang dihasilkan. Membaiknya epitel permukaan mata menyebabkan perbaikan serta peningkatan densitas sel goblet. Friend dkk menyatakan bahwa terdapat hubungan erat antara densitas sel goblet dan kandungan musin air mata. Sehingga dengan perbaikan sel goblet akan dijumpai peningkatan kualitas musin yang dapat diperiksa dengan tes Ferning^{10,11,31}. Begitu pula sebaliknya, kualitas musin yang jelek akan mengganggu *tear wet-ability* sehingga mengakibatkan metaplasia epitel permukaan mata²².

Pada penelitian ini ternyata membaiknya epitel permukaan mata dan gradasi DKM diikuti pula oleh membaiknya gambaran Ferning, yang dapat dilihat pada gambar 7. Dari gambar tersebut terlihat perbaikan tipe Ferning yang bermakna, baik pada kelompok I maupun II pada minggu ke-4 sampai dengan minggu ke-12 ($p_{M0-4} < 0,0001$; $p_{M0-8} < 0,0001$; $p_{M0-12} < 0,0001$).

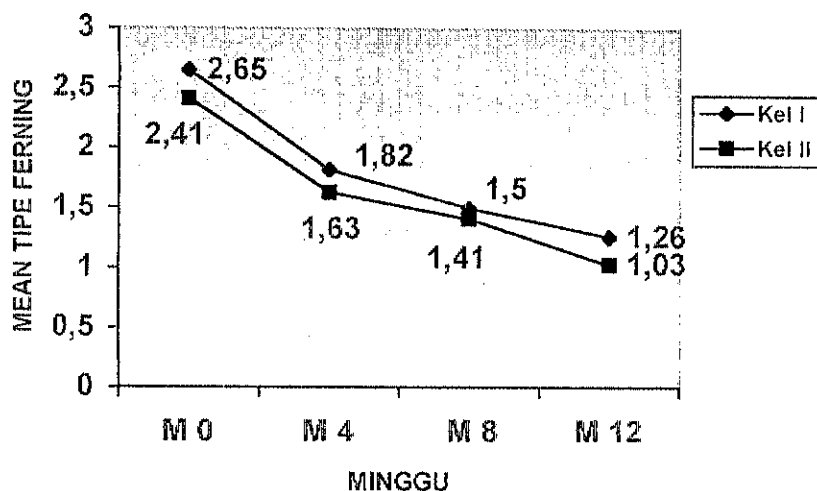
Pada minggu ke-4 tampak perbaikan tipe Ferning pada kedua kelompok dimana sebagian besar sampel kelompok I maupun II menunjukkan Ferning tipe 2 dan diikuti oleh tipe 1. Pada kelompok I dijumpai 24 mata (70,6%) Ferning tipe 2 dan 8 mata (23,5%) tipe 1. Sedangkan pada kelompok II dijumpai 16 mata (50%) Ferning tipe 2 dan 14 mata (43,8%) tipe 1. Meskipun tampaknya kelompok II menunjukkan hasil yang lebih baik, tetapi perbedaan diantara kedua kelompok ini tidak signifikan dengan $p = 0,128$.

Pada minggu ke-8 sebagian besar sampel ke-2 kelompok menunjukkan perbaikan tipe Ferning. Tetapi perbaikan tampaknya lebih nyata pada kelompok II, dimana 19 mata (59,4%) menunjukkan Ferning tipe 1, dan 13 mata (40,6%) menunjukkan tipe 2. Sedangkan pada kelompok I, 18 mata (52,9%) menunjukkan tipe 1 dan 15 mata (44,2%) dengan tipe 2. Namun demikian tidak terdapat perbedaan yang signifikan diantara kedua kelompok dengan $p = 0,538$.

Pada minggu ke-12 masih tampak perbaikan tipe Ferning pada kedua kelompok, dimana kelompok II menunjukkan perbaikan kualitas musin yang lebih nyata. Pada minggu ke-12 ini sebagian besar sampel memperlihatkan corakan Ferning tipe 1 pada

25 mata (73,5%) sampel kelompok I dan 31 mata (96,9%) sampel kelompok II. Tampak perbedaan yang signifikan diantara kedua kelompok dengan $p=0,009$.

Perubahan gambaran Ferning kedua kelompok dapat juga dilihat pada gambar 17, dimana tampak perubahan mean tipe Ferning. Pada kelompok I terlihat mean tipe Ferning 2,65 pada awal penelitian berubah menjadi 1,82 pada minggu ke-4, 1,5 pada minggu ke-8 dan 1,26 pada minggu ke 12. Sedangkan pada kelompok II terlihat mean tipe Ferning 2,41 pada awal penelitian berubah menjadi 1,63 pada minggu ke-4, 1,41 pada minggu ke-8 dan 1,03 pada minggu ke 12.



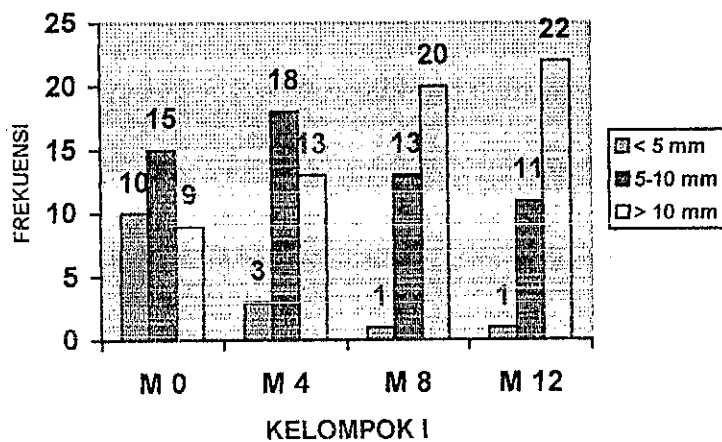
Grafik 17. Perubahan tipe Ferning pada kedua kelompok penelitian

Pemberian vitamin A menyebabkan perbaikan regenerasi sel goblet. Dalam penelitiannya, Armstrong melaporkan bahwa perbaikan sel goblet terjadi pada minggu ke-3¹⁶. Sedangkan Zulhidya melaporkan perbaikan sel goblet pada penderita DKM terjadi mulai minggu ke-2¹¹. Penelitian lain pada penderita defisiensi vitamin A menunjukkan perbaikan sel goblet dalam 2 – 4 minggu¹⁶.

Pada penelitian ini terlihat membaiknya kualitas musin air mata selaras dengan perbaikan epitel permukaan mata yang terlihat dari pemeriksaan sitologi impresi dan pewarnaan rose bengal. Pemberian doksisisiklin sistemik dan vitamin A topikal selama 4 minggu mampu memperbaiki kualitas musin air mata pada minggu ke-4 dan efek

perbaikan ini masih terus berlangsung sampai dengan minggu ke-12. Namun dengan penambahan vitamin A sistemik dan pemberian doksisisiklin sistemik serta vitamin A topikal yang terus menerus sampai dengan minggu ke-12 memberikan efek potensiasi sehingga menunjukkan hasil kualitas musin yang lebih baik pada minggu ke-12 (dengan perbedaan yang bermakna, $p=0,009$).

IV.2.4. KUANTITAS AIR MATA

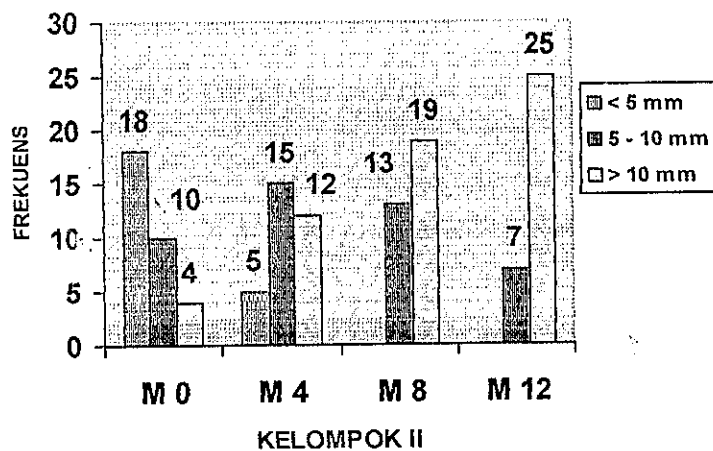


p Schirmer kel I :

$M_{0-4} p=0,001$

$M_{4-8} p=0,003$

$M_{8-12} p=0,317$



p Schirmer kel II :

$M_{0-4} p<0,0001$

$M_{4-8} p=0,001$

$M_{8-12} p=0,014$

p Schirmer diantara kedua kelompok :

$M_0 p=0,085$

$M_4 p=0,792$

$M_8 p=0,554$

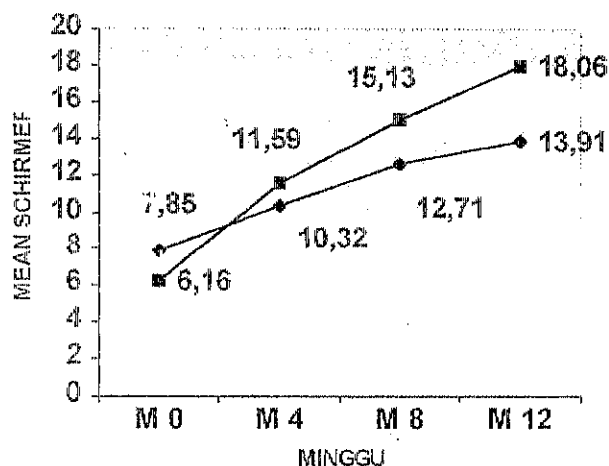
$M_{12} p=0,040$

Gambar 18. Perbandingan Nilai Schirmer pada Kedua Kelompok Penelitian

Dari gambar 18 terlihat sebagian besar penderita DKM pada kedua kelompok penelitian pada awalnya menunjukkan nilai Schirmer tanpa anestesi < 5 mm (abnormal), 29,4% sampel kelompok I dan 56,3% sampel kelompok II. Dengan nilai

rerata $7,85 \pm 4,77$ mm pada kelompok I dan $6,16 \pm 5,24$ mm pada kelompok II. Hal ini menunjukkan kurangnya sekresi basal dan refleks sekresi air mata.

Dengan membaiknya gradasi DKM tampaknya diikuti pula oleh perbaikan kuantitas air mata. Dari gambar 18 terlihat perbaikan nilai Schirmer yang bermakna pada minggu ke-4 sampai dengan minggu ke-8 pada kedua kelompok (kelompok I : $p_{M_{0-4}} = 0,001$; $p_{M_{4-8}} = 0,003$ sedangkan kelompok II : $p_{M_{0-4}} < 0,0001$; $p_{M_{4-8}} = 0,001$). Setelah minggu ke-8 pada kelompok I tidak dijumpai perbaikan nilai Schirmer yang signifikan ($p_{M_{8-12}} = 0,317$), tetapi pada kelompok II masih dijumpai perbaikan nilai Schirmer yang bermakna ($p_{M_{8-12}} = 0,014$).



Gambar 19. Perubahan Nilai Schirmer pada Kedua Kelompok Penelitian

Perbaikan kuantitas air mata kedua kelompok dapat juga dilihat pada gambar 19 dimana tampak perubahan mean nilai Schirmer. Pada kelompok I terlihat mean nilai Schirmer 7,85 pada awal penelitian berubah menjadi 10,32 pada minggu ke-4, 12,71 pada minggu ke-8 dan 13,91 pada minggu ke 12. Sedangkan pada kelompok II terlihat mean nilai Schirmer 6,16 pada awal penelitian berubah menjadi 11,59 pada minggu ke-4, 15,13 pada minggu ke-8 dan 18,06 pada minggu ke 12.

Perbaikan volume akuos lapisan air mata yang terlihat dari tes Schirmer sebagai hasil pencegahan evaporasi yang berlebihan yang disebabkan oleh DKM. Dengan perbaikan DKM diharapkan komposisi lapisan lipid seimbang sehingga fungsi barier

dari lipid menjadi lebih baik. Disamping itu perbaikan nilai Schirmer kemungkinan disebabkan efek vitamin A pada kelenjar lakrimal.

Perbaikan nilai Schirmer pada awal penelitian sampai dengan minggu ke-8 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan diantara kelompok I dan kelompok II ($p_{M_0} = 0,085$; $p_{M_4} = 0,792$; $p_{M_8} = 0,554$). Tetapi pada minggu ke-12 terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok ($p_{M_{12}} = 0,040$) dengan perbaikan yang lebih nyata pada kelompok II. Pada minggu ke-12 ini sebagian besar sampel, 22 mata (64,7%), sampel kelompok I dan 25 mata (78,1%) sampel kelompok II telah menunjukkan sekresi yang normal > 10 mm, atau 97,1% sampel kelompok I dan 100 % sampel kelompok II dengan nilai Schirmer > 5 mm. Rerata nilai Schirmer kelompok I $13,91 \pm 5,28$ mm sedangkan kelompok II dengan rerata $18,06 \pm 7,80$ mm.

Dari penelitian ini terlihat bahwa pemberian doksisisiklin sistemik dan vitamin A topikal selama 4 minggu mampu memperbaiki volume air mata pada minggu ke-4 dan efek perbaikan ini masih terus berlangsung sampai dengan minggu ke-12. Namun dengan penambahan vitamin A sistemik dan pemberian doksisisiklin sistemik serta vitamin A topikal yang terus menerus sampai dengan minggu ke-12 memberikan efek potensiasi sehingga menunjukkan perbaikan volume air mata yang lebih baik sampai dengan minggu ke-12 (dengan perbedaan yang bermakna, $p = 0,040$).

Secara keseluruhan, karakteristik penderita DKM setelah perlakuan pada minggu ke-4, minggu ke-8 dan minggu ke-12 dapat dilihat pada tabel 5. Dari tabel tersebut tampak bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan diantara kelompok I dan kelompok II ($p > 0,05$) pada gradasi DKM, derajat metaplasia konjungtiva dengan sitologi impresi, pewarnaan rose bengal, tipe Ferning dan nilai Schirmer pada minggu ke-4 dan ke-8. Tetapi pada minggu ke-12 (akhir pengamatan) terlihat perbedaan yang bermakna diantara kedua kelompok ($p < 0,05$), dimana kelompok II menunjukkan hasil yang lebih baik.

Tabel 5. Karakteristik penderita DKM pada kedua kelompok penelitian setelah perlakuan pada minggu ke-4, minggu ke-8 dan minggu ke-12 pada 66 mata

Variabel	Kelompok I			Kelompok II			p		
	M IV Frek (%)	M VIII Frek (%)	M XII Frek (%)	M IV Frek (%)	M VIII Frek (%)	M XII Frek (%)	M IV	M VIII	M XII
Gradasi DKM							0,148	0,073	0,007
Gradasi 0	-	14 (41,2)	27 (79,4)	2 (6,3)	20 (62,5)	32 (100)			
Gradasi 1	25 (73,5)	19 (55,9)	7 (20,6)	25 (78,1)	12 (37,5)	-			
Gradasi 2	9 (26,5)	1 (2,9)	-	5 (15,6)	-	-			
Gradasi 3	-	-	-	-	-	-			
Total	34 (100)	34 (100)	34 (100)	32 (100)	32 (100)	34 (100)			
Modus	1	1	0	1	0	0			
Sitologi Impresi							0,142		0,018
Derajat 0	1 (2,9)		17 (50)	5 (15,6)		25 (78,1)			
Derajat 1	21 (61,8)		17 (50)	19 (59,4)		7 (21,9)			
Derajat 2	12 (35,3)		-	8 (25)		-			
Derajat 3	-		-	-		-			
Total	34 (100)		34 (100)	32 (100)		32 (100)			
Modus	1		0	1		0			
Rose Bengal							0,733	0,159	0,002
Skor 0	-	-	-	-	-	3 (9,4)			
1	-	4 (11,8)	13 (38,3)	1 (3,1)	11 (34,4)	20 (62,5)			
2	15 (44,1)	23 (67,6)	19 (55,8)	10 (31,2)	14 (43,7)	9 (28,1)			
3	13 (38,3)	5 (14,7)	2 (5,9)	17 (53,1)	7 (21,9)	-			
4	5 (14,7)	2 (5,9)	-	2 (6,3)	-	-			
5	1 (2,9)	-	-	2 (6,3)	-	-			
6	-	-	-	-	-	-			

7	-	-	-	-	-	-			
8	-	-	-	-	-	-			
Total	34	34	34	32	32	32			
Modus	(100) 2	(100) 2	(100) 2	(100) 3	(100) 2	(100) 1			
Fering							0,128	0,538	0,009
Tipe 1	8 (23,5)	18 (52,9)	25 (73,5)	14 (43,8)	19 (59,4)	31 (96,9)			
Tipe 2	24 (70,6)	15 (44,2)	9 (26,5)	16 (50)	13 (40,6)	1 (3,1)			
Tipe 3	2 (5,9)	2 (2,9)	-	2 (6,3)	-	-			
Tipe 4	-	-	-	-	-	-			
Total	34	34	34	32	32	32			
Modus	(100) 2	(100) 1	(100) 1	(100) 2	(100) 1	(100) 1			
Schirmer							0,792	0,554	0,040
< 5 mm	3 (8,8)	1 (2,9)	1 (2,9)	5 (15,6)	-	-			
5 mm – 10 mm	18 (52,9)	13 (38,3)	11 (32,4)	15 (46,9)	13 (40,6)	7 (21,9)			
> 10 mm	13 (38,3)	20 (58,8)	22 (64,7)	12 (37,5)	19 (59,4)	25 (78,1)			
Total	34	34	34	32	32	32			
Rerata	(100) 10,32 ± 4,94	(100) 12,71 ± 4,87	(100) 13,91 ± 5,28	(100) 11,59 ± 7,44	(100) 15,13 ± 8,4	(100) 18,06 ± 7,8			

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

1. Pemberian terapi pada kelompok I maupun kelompok II mampu memberikan perbaikan epitel konjungtiva, gradasi DKM, dan kualitas musin air mata yang bermakna secara statistik sampai 12 minggu.
2. Perbaikan kuantitas air mata yang bermakna secara statistik pada kelompok I hanya berlangsung selama 8 minggu, sedangkan pada kelompok II dapat berlangsung sampai 12 minggu.
3. Secara keseluruhan terdapat kecenderungan perbaikan epitel konjungtiva, gradasi DKM, kualitas musin dan kuantitas air mata yang dihasilkan oleh kelompok II yang mendapat terapi kombinasi vitamin A oral, vitamin A topikal dan doksisisiklin oral lebih baik dibanding kelompok I yang mendapat terapi kombinasi vitamin A topikal dan doksisisiklin oral saja.
4. *Tear film* yang stabil membantu efektifitas vitamin A pada penyembuhan epitel konjungtiva.

SARAN

1. Mengingat efek samping terapi vitamin A sistemik maupun doksisisiklin sistemik jangka panjang, pemberian kombinasi doksisisiklin oral dan vitamin A topikal selama 4 minggu dirasa cukup untuk dapat dipergunakan pada penatalaksanaan penderita DKM derajat sedang-berat.
2. Perlu penelitian sitologi impresi lanjutan yang lebih lengkap (tidak hanya pada regio nasal saja) dan dengan penghitungan densitas sel goblet sehingga didapatkan gambaran yang lebih baik mengenai kondisi *ocular surface*.
3. Perlu standarisasi yang lebih baik untuk gradasi DKM, rose bengal, dan sitologi impresi untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Weingeist TA, Liesegang TJ, Grand MG. Basic and clinical science course. Fundamentals and principles of ophthalmology. Section 2. 1997-1998. San Francisco : American Academy of Ophthalmology, 1997 : 305-9.
2. Lemp MA, Chacko B. Diagnosis and treatment of tear deficiencies. In : Duane TD, Jaeger EA, eds. Duane's Clinical ophthalmology. Vol 4, chapter 14. Philadelphia : Harper dan Row Publ, 1986 : 1-13.
3. Weingeist TA, Liesegang TJ, Grand MG. Basic and clinical science course. External eye disease and cornea. Section 8. 2000-2001. San Francisco : American Academy of Ophthalmology, 2000 : 61-71.
4. Tsubota K. Tear dynamic and dry eye. Progress in Retinal and Eye Research 17(4), 1998 : 565-96.
5. Girsang W, Gondhowiardjo TD. Efek sinergi golongan tetrasiklin pada disfungsi kelenjar meibom. Penelitian Akhir Bagian Ilmu Penyakit Mata FKUI / RSUPN Cipto Mangunkusumo. Jakarta, 1999.
6. Bowman RW, Dougherty JM, Mc Culley JP. Chronic blepharitis aand dry eye. Int Ophthalmol Clin 27 (1), 1987 : 27-35.
7. Bajorf AM. Lid inflammations. In : Albert DM, Jacobiec FA, eds. Principles and practice of ophthalmology. Philadelphia : WB Saunders, 1994 : 101-16.
8. Shimazaki J, Gota E, Ono M, Shimmura S, Tsubota K. Meibomian gland dysfunction in patients with Sjogren syndrome. Ophthalmology 105 (8), 1998 : 1485-8.
9. Marsetio M. Efektivitas vitamin A topikal, vitamin A oral dan doksisisiklin oral pada pengobatan penderita disfungsi kelenjar meibom. Penelitian multisenter. 2001.
10. Tseng SCG, Tsubota K. Perspective. Important concept for treating ocular surface disorder. Am J Ophthalmol 124, 1997 : 824-35.
11. Zulhidya L, Gondhowiardjo TD. Efek vitamin A topikal terhadap epitel permukaan mata dan kualitas musin lapisan air mata. Penelitian Akhir Bagian Ilmu Penyakit Mata FKUI / RSUPN Cipto Mangunkusumo. Jakarta, 2001.
12. Tabbara KF, Okumoto M. Ocular ferning test. A qualitative test for mucus deficiency. Ophthalmology 89, 1982 : 712-4.

13. Feenstra GPR, Tseng SCG. What is actually stained by rose bengal ? Arch Ophthalmol, 110, 1992 : 984-93.
14. Nelson JD, Havener VR, Cameron JD. Cellulose acetat impressions of the ocular surface. Dry eye states. Arch Ophthalmol 101, 1983 : 1869-72.
15. Nguyen DH, Beuerman RW, Thompson HW, Dilorreto DA. Growth factor and neurotrophic factor mRNA in human lacrimal gland. Cornea 16 (2) 1997 : 192-9.
16. Kruse FE, Tseng SCG. Retinoic acid regulates clonal growth and differentiation of cultured limbal and peripheral corneal epithelium. Invest Ophthalmol and Vis Sci 35 (5), 1994 : 2406, 2408, 2411.
17. Maumenee AE. The history of vitamin A and its ophthalmic implication. Arch Ophthalmol 11, 1993 : 547-50.
18. Simanjuntak G, Gondhowiardjo TD. Efek vitamin A dan doksisisiklin pada stabilitas lapisan air mata penderita disfungsi kelenjar meibom. Penelitian Akhir Bagian Ilmu Penyakit Mata FKUI / RSUPN Cipto Mangunkusumo. Jakarta, 2000.
19. Maus M. Basic eyelid anatomy. In : Albert DM, Jakobiec FA, Robinson NL, eds. Clinical Practice. Principles and practice of ophthalmology. Vol 3, chapter 150. Philadelphia : WB Saunders Co, 1994 : 1690-1.
20. Raviola E. The eye. In : Bloom and Fawcett, eds. A textbook of histology, 12th ed, 1994 : 914-7.
21. Holly FJ, Lemp MA. Tear physiology and dry eye. Survey of Ophthalmol 22 (2) , 1997 : 69-87.
22. Gondhowiardjo TD. Qualities deterioration of lipid and mucous fraction of the tear film. In understanding ocular infection and inflammation. Recent concepts in basic science, clinical aspects and didactic course. Department of Ophthalmology. Faculty of Medicine University of Indonesia. Jakarta, 1999 : 59-64.
23. Lee SH, Tseng SCG. Rose bengal staining and cytologic characteristics associated with lipid tear deficiency. Am J Ophthalmol 124, 1997 : 736-50
24. Gilbard JP. Dry eye disorders. In : Albert DM, Jakobiec FA, Robinson NL, eds. Clinical Practice. Principles and practice of ophthalmology. Vol 3, chapter 150. Philadelphia : WB Saunders Co, 1994 : 257-76.

25. Lambert DW. Physiology of the tear film. In : Smolin G, Thoft RA, eds. The cornea. Boston : little Brown Co, 1983 : 31-42.
26. Vaughan MD, General ophthalmology ,14 th. USA: Appleton & Lange,1995 :90-4
27. Lemp MA. Recent development in dry eye management. Ophthalmology 94, 1987 : 1299-1304.
28. Spencer WH, Zimmerman LE. Conjunctiva. In : Spencer WH, ed. Ophthalmic pathology. An atlas and textbook. Vol 1. Philadelphia : WB Saunders Co, 1985 : 109-16, 168-74.
29. Nelson JD. Wright JC. Conjunctival goblet cell densities in ocular surface disease. Arch Ophthalmol 102, 1984 : 1049-51.
30. Kessing SV. Epithelial cysts in conjunctiva. Acta Ophthalmol 47, 1969 : 642-55.
31. Tseng SCG. Ocular surface reconstruction by stem cell transplantation and amniotic membrane transplantation. AAO Annual meeting, Dallas, 2000 : 1-12.
32. Tseng SCG. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. Ophthalmology 92, 1985 : 728-33.
33. American Medical Association. Drug evaluations. Annual 1995. USA : AMA Pub : 1519-28, 2289-90.
34. Moroi SE, Lichter PR. Ocular pharmacology. In : Goodman LS, Gilman A, eds. The pharmacological basis of therapeutics, 9th ed. New York : Mc Graw-Hill Co, 1996 : 1641-2.
35. Wasitaatmaja, Soepardiman L, Rata IGAK. Pengobatan akne vulgaris beradang dengan dosisiklin oral 50 mg sehari. MDVI, XVIII/47, 1991 : 9-12.
36. Lwanga SK, Lemeshow S. Sample size determination in health studies. A practical manual. Geneva : WHO Publ, 1991 : 28.